



Silvie Emmanuelle

Tiago Trigo

**Infeção do trato urinário e resistência aos
antimicrobianos**



**Silvie Emmanuelle
Tiago Trigo**

**Infeção do trato urinário e resistência aos
antimicrobianos**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Licenciada Maria da Conceição Outeiro Afonso Domingos, Laboratório Moderno de Viseu, Lda e sob coorientação da Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso Doutora, Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

O júri

Presidente

Prof. Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha

Professora Auxiliar

Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Vogais

Doutora Isabel da Silva Henriques

Investigadora em Pós-doutoramento, CESAM & Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Licenciada Maria da Conceição Outeiro Afonso Domingos

Diretora Técnica Laboratório Moderno de Viseu, Lda (Orientadora)

Prof. Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso

Professora Auxiliar

Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (Coorientadora)

Agradecimentos

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração desta Dissertação/Tese de Mestrado os meus mais sinceros agradecimentos.

À Dr^a Maria da Conceição Outeiro Afonso Domingos pela orientação científica desta tese de mestrado, pelo seu empenho, dedicação, críticas e opiniões durante a preparação do manuscrito.

À Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso, minha coorientadora, pelo acompanhamento, ajuda e disponibilidade durante estes meses de realização da minha tese de mestrado, sem a qual a execução desta não seria possível.

A todas as colegas do laboratório, pela ajuda, boa disposição, sugestão e amizade demonstrada.

Aos meus amigos, em especial à Sónia, à Luisa e à Micaela, muito obrigada, pela amizade, apoio, ajuda, paciência e disponibilidade. Sem o vosso apoio tinha sido tudo muito mais difícil.

Por último, uma palavra especial para o Luis, pelo apoio incondicional, pela compreensão, carinho que teve comigo durante este período.

Palavras-chave

Infeção do trato urinário, *Escherichia coli*, resistência antimicrobiana.

Resumo

A infeção do trato urinário é considerada a segunda infeção mais frequente nas infeções adquiridas na comunidade. A etiologia microbiana das ITU tem-se mantido mais ou menos constante ao longo do tempo, sendo que membros da família das Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* em particular são os principais microrganismos responsáveis por ITU, no entanto, os patogénicos apresentam atualmente algumas alterações no que respeita às resistências aos antimicrobianos. Deste modo, é imprescindível conhecer as suas resistências de forma a tornar a terapêutica empírica mais rápida e eficaz sem, no entanto, contribuir para aparecimento de novas estirpes resistentes. Com o presente trabalho pretendeu-se identificar quais os microrganismos mais comuns envolvidos nas infeções do trato urinário e os seus perfis de resistência aos antimicrobianos.

Foram analisados os resultados de 1582 amostras de urina com pedido de exame bacteriológico, entre os meses de janeiro e dezembro de 2011, realizadas no Laboratório Moderno de Viseu, Lda. As amostras foram analisadas e avaliadas pelo exame direto, cultural a identificação dos microrganismos e das resistências aos antimicrobianos foram efetuadas no sistema miniAPI.

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se deste estudo que as bactérias responsáveis pelas ITU com maior frequência são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*. A resistência mais significativa das estirpes de *Escherichia coli* verificou-se relativamente à ampicilina, à ticarcilina, à acetil cefuroxima, o cotrimoxazol e o grupo das quinolonas o que leva a sugerir que estes antimicrobianos não são uma boa escolha para uma terapêutica empírica. Quanto à eleição dos antimicrobianos para o tratamento das ITU, esta deve basear-se sempre que possível nos resultados laboratoriais.

Keywords

Urinary tract infection, *Escherichia coli*, antimicrobial resistance.

Abstract

Urinary tract infection is considered to be the second most common infection in community-acquired infections. The microbial etiology of UTI has remained more or less constant over time, with members of the family Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* in particular are the main microorganisms responsible for UTI, however, currently have some changes in pathogenicity with regard to antimicrobial resistance. Thus, it is vital to know your resistances to make empirical therapy more quickly and efficiently without, however, contribute to the emergence of new resistant strains.

With this work was intended to identify what the most common microorganisms involved in urinary tract infection and their antimicrobial resistance profiles 1582 results were analyzed urine samples for bacteriological examination, between the months of January and December 2011, which have taken place in Laboratório Moderno de Viseu, Lda. The samples were analyzed and evaluated by direct examination, cultural identification of micro-organisms and antimicrobial resistance in the system have been made miniAPI.

According to the results obtained, it is in this way that the bacteria responsible for UTI are most often *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*. The most significant of resistance strains of *Escherichia coli* found on the ampicillin, the ticarcilina, the acetyl cefuroxime, given and the Group of the quinolones which leads to suggest that these antimicrobials are not a good choice for empirical therapy. Regarding the election of antimicrobials for treatment of UTI, this shall be based wherever possible in the laboratory results.

Índice

1. Introdução	3
1.1 Infecções do trato urinário	3
1.1.1 Mecanismos de patogénese	3
1.1.2 Classificação das ITU	5
1.1.3 Prevalência e fatores de risco	6
1.1.4 Etiologia	9
1.1.5 <i>E. coli</i>	9
1.2 Antimicrobiano	11
1.2.1 Mecanismos de ação dos antimicrobianos	12
1.2.2 Antimicrobianos para ITU	13
1.2.2.1 Antibióticos antiparientais	13
1.2.2.2 Antibióticos inibidores da síntese proteica	17
1.2.2.3 Antibióticos inibidores da síntese dos ácidos nucleicos	17
1.2.2.4 Antibióticos antimetabolitos	18
1.2.2.5 Nitrofuranos	19
1.2.3 Mecanismos de resistência aos antimicrobianos	20
1.2.4 Terapêutica antimicrobiana	21
2. Objetivos	27
3. Material e Métodos	31
3.1 População de estudo	31
3.2 Colheita de amostra de urina	31
3.3. Transporte e conservação da amostra de urina	32
3.4 Processamento microbiológico das amostras de urina	33

4. Resultados e Discussão	39
4.1 Exame bacteriológico da urina	39
4.2 Distribuição por sexo	40
4.3 Distribuição da infecção urinária por faixa etária	41
4.4 Identificação das estirpes isoladas	43
4.5 Distribuição das estirpes isoladas por sexo	45
4.6 Resistência de <i>E. coli</i> aos antimicrobianos	46
4.6.1 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> aos antimicrobianos estudados	46
4.6.2 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> ao grupo dos β -lactâmicos	48
4.6.3 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> à fosfomicina	50
4.6.4 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> ao grupo dos aminoglicosídeos	51
4.6.5 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> ao grupo das quinolonas	52
4.6.6 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> ao grupo das Sulfonamidas	54
4.6.7 Resistência de estirpes de <i>E. coli</i> à nitrofurantoína	55
5. Conclusão	59
6.Referências Bibliográficas	63

Índice de figuras

Figura 1: Anatomia do aparelho urinário, composto por dois rins, dois ureteres, uma bexiga e uma uretra (Seeley et al., 1997).	4
Figura 2: Célula de <i>E. coli</i> , exibindo fímbrias P e flagelos (mais espessos) (Ferreira e Sousa, 2000).	11
Figura 3: Esquema molecular da parede celular das bactérias Gram negativo (Ferreira e Sousa, 1998).	15
Figura 4: Coloração de Gram: bactérias de Gram positivo (A) e bactérias de Gram negativo (B) (Sousa, 2006).	33
Figura 5: Percentagem da distribuição do exame bacteriológico com resultado positivo e negativo.	39
Figura 6: Distribuição do exame bacteriológico positivo segundo o sexo.	40
Figura 7: Distribuição das infecções urinárias por faixa etária e por sexo.	41
Figura 8: Frequência de agentes causadores de ITU por sexo.	45
Figura 9: Perfil da resistência das estirpes de <i>E. coli</i> aos antimicrobinos	46
Figura 10: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> ao grupo dos β -lactâmicos.	48
Figura 11: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> à fosfomicina.	50
Figura 12: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> ao grupo aminoglicosídeos.	51
Figura 13: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> ao grupo das quinolonas.	52
Figura 14: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> ao grupo das sulfonamidas.	54
Figura 15: Perfil de resistências de <i>E. coli</i> à nitrofurantoína.	55

Índice de tabelas

Tabela 1: Principais grupos de antibióticos usados nas ITU (Sousa, 2006).	13
Tabela 2: Principais classes de cefalosporinas.	16
Tabela 3: Recomendações para a terapia antimicrobiana (Rolo <i>et al.</i> , 2008).	23
Tabela 4: Avaliação do crescimento bacteriano no meio CPS ID 3.	35
Tabela 5: Microrganismos isolados nos exames bacteriológicos positivos.	43

Lista de abreviaturas

CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CMI	Concentração mínima inibitória
CPS ID 3	Gelose chrom
DNA	Ácido desoxirribonucleíco
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EUCAST	European Committe of Antimicrobial Susceptibility Testing
IDSA	Infections Disease society of America
IND	Indol
ITU	Infeção Trato Urinário
LDC	Lisina descarboxilase
ODC	Ornitina descarboxilase
RNA	Ácido ribonucleico
UFC	Unidade formadoras de colónias
URE	Urease
β -GLU	B-glucosidase
β -GUR	β -glucuronidade

1. Introdução

1.1 Infecções do trato urinário

A infecção do trato urinário (ITU) traduz a presença e multiplicação de microrganismos na urina, com possível invasão e reação das estruturas tubulares ou parenquimatosas do aparelho urinário (Correia *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2009).

Embora a maioria das ITU seja aguda e de curta duração, estas podem resultar em sequelas graves, podendo mesmo levar ao comprometimento da função renal e em casos mais severos provocar a morte (Martins *et al.*, 2010).

É atualmente uma das principais causas de consulta nos cuidados de saúde primários (Alós, 2005; Governado *et al.*, 2007; Rabiais *et al.*, 2010; Tena *et al.*, 2010; Rabanaque *et al.*, 2011). Sendo, depois das infeções respiratórias a segunda causa mais comum de infeções bacterianas (Moyo *et al.*, 2010).

1.1.1 Mecanismos de patogénese

A invasão do aparelho urinário está condicionada a um grupo restrito de microrganismos. Esta resulta da interação entre fatores de patogenia da bactéria e mecanismos de defesa do hospedeiro (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2008).

Se, por algum motivo, estas bactérias não forem eliminadas, inicia-se uma colonização. A adesão da bactéria ao endotélio leva à sua multiplicação, no entanto, estas podem ser eliminadas pela urina ou provocarem uma infeção, dando origem a uma lesão do epitélio vesical (Rolo *et al.*, 2008).

A maioria das ITU são causadas por bactérias da flora intestinal que invadem e colonizam a zona urogenital, através da via ascendente (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Mendo *et al.*, 2008; Amadeu *et al.*, 2009; Cullerés *et al.*, 2010). A partir das zonas colonizadas da região periuretral e do vestíbulo da vulva, as bactérias ascendem em pequeno número até a bexiga. Em condições normais, as bactérias que chegam à bexiga não vão causar infeção devido ao pH, alta osmolalidade, elevadas concentrações de ureia e de ácidos orgânicos e presença da glicoproteína uromucoide na urina que lhe confere

propriedades antibacterianas, sendo posteriormente eliminadas pelo fluxo urinário (Rahn, 2008; Chung, 2010; Oliveira e Silva, 2010). No entanto quando não é eliminada na bexiga, a bactéria pode atingir os ureteres e os rins (Figura 1). Esta ascensão é facilitada se a bactéria possuir adesinas específicas ou se algum processo interferir com a função normal do aparelho urinário (Chung, 2010).

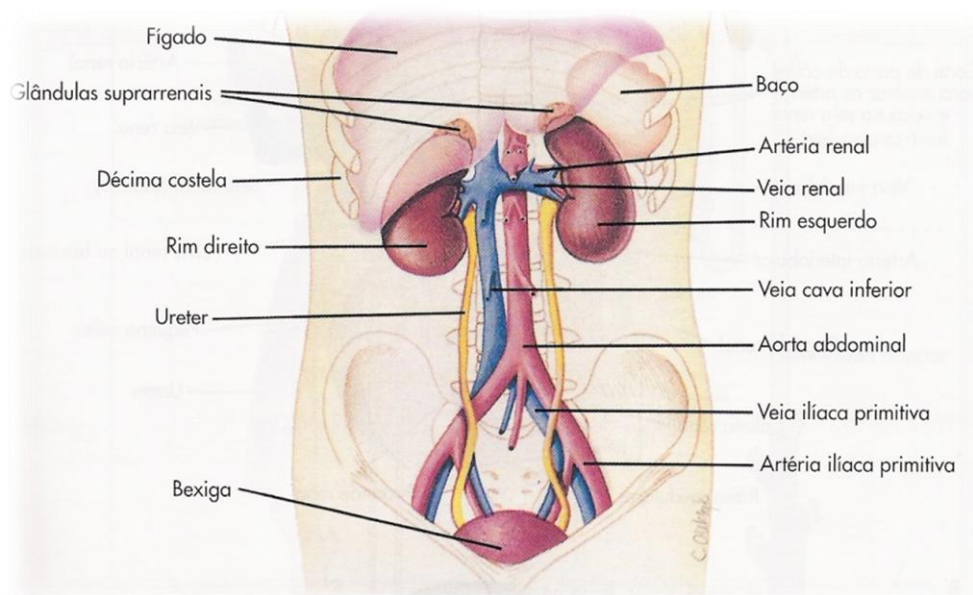


Figura 1: **Anatomia do aparelho urinário, composto por dois rins, dois ureteres, uma bexiga e uma uretra (Seeley et al., 1997).**

A infecção do aparelho urinário através da via hematogénea é pouco frequente em indivíduos normais, no entanto, uma bactéria responsável por uma infecção primária noutro local do organismo pode contaminar o sangue e infectar secundariamente o aparelho urinário (Correia *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2010).

Outra das vias de disseminação da infecção é a via linfática, embora seja uma via duvidosa, poderá contudo ter um papel importante no caso de uma infecção crónica (Correia *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2009).

1.1.2 Classificação das ITU

A ITU é uma das infecções bacterianas mais frequentes no adulto que pode envolver tanto o trato urinário inferior como o superior, podendo ainda envolver ambos (Rossi *et al.*, 2011).

As ITU podem ser classificadas segundo a sua localização anatômica, inferior, quando a presença de bactérias se limita à bexiga (cistite) e superior quando afeta a pélvis e o parênquima renal (pielonefrite) (Correia *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2010).

A sintomatologia clínica mais comum das ITU inferior consiste na polaquiúria, urgência miccional, disúria e estrangúria (Car, 2006; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Chung, 2010; Wagenelehner *et al.*, 2011).

Quando há presença de febre, calafrios, dor lombar e/ou suprapúbica é considerada evidência clínica de ITU superior. O início dos sintomas é geralmente rápido (Car, 2006; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Wagenelehner *et al.*, 2011).

As ITU podem ser adicionalmente classificadas em:

- Infecções não complicadas, ocorrem em indivíduos saudáveis, sem anomalias estruturais ou funcionais do trato urinário (Narciso *et al.*, 2011; Andreu *et al.*, 2011), normalmente envolve o trato urinário inferior. No entanto em alguns casos uma pielonefrite pode ser considerada não complicada. A maioria destes pacientes são mulheres e as bactérias geralmente são sensíveis aos antimicrobianos e facilmente erradicados por uma terapia antimicrobiana de baixo custo. O agente etiológico mais frequentemente associado é *Escherichia coli* (*E. coli*), responsável por cerca de 70 a 90% dos casos (Narciso *et al.*, 2011).
- Infecções complicadas, estão associadas a anomalias estruturais ou funcionais do trato urinário. Estas anomalias compreendem características do próprio hospedeiro ou mecanismos externos tais como: obstrução (tumores, hipertrofia da próstata, anomalias congénitas), manipulação (cateter uretral, procedimentos urológicos), diminuição do fluxo (bexiga neurogénica, refluxo vesicouretral), anomalias metabólicas (nefrocalcinose), imunodepressão (transplante renal). E/ou

falha do tratamento antibiótico devido à resistência microbiana ao antibiótico ou por toma inadequada (Amadeu *et al.*, 2009; Oliveira e Silva, 2010; Andreu *et al.*, 2011).

A ITU recorrentes (superior ou igual a três episódios de ITU num período de 12 meses) (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Beerepoot *et al.*, 2012) podem ser consideradas como recedivantes (20% dos casos) ou como reinfeção (80% dos casos). A recedivante ocorre na 1ª ou 2ª semana após o fim do tratamento e é devido à persistência da estirpe original. A reinfeção é causada por diferentes microrganismos (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Salvatore *et al.*, 2011; González-Chamorro *et al.*, 2012).

A colonização da urina na ausência de sintomas é denominada bacteriúria assintomática (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Andreu *et al.*, 2011).

1.1.3 Prevalência e fatores de risco

A ITU é a segunda infecção bacteriana mais frequente no ser humano, atingindo todas as faixas etárias, embora a sua prevalência seja diferente consoante o sexo e a idade (Mendo *et al.*, 2008; González-Chamorro *et al.*, 2012).

Nos primeiros meses de vida as ITU são mais suscetíveis no género masculino (Barros *et al.*, 2011), devido a malformações congénitas, como a válvula de uretra posterior ou malformações da uretra (hipóspadia, epispádia) (Santos *et al.*, 2008; González-Chamorro *et al.*, 2012).

A partir desta idade a ITU, é mais frequente no sexo feminino devido a alterações funcionais, o refluxo da urina por incompetência das válvulas vesicouretrais, que normalmente é corrigida espontaneamente na puberdade. Se a infecção não for controlada as bactérias podem alcançar a pélvis renal e rins, ocasionando múltiplos episódios de pielonefrites, e consequentemente insuficiência renal crónica (González-Chamorro *et al.*, 2012).

Segundo Jeff Round e seus colaboradores (2012), estima-se diagnosticar ITU em 11,3% no sexo feminino e 3,6% no sexo masculino, com idade média de 16 anos (Round *et al.*, 2012).

Na vida adulta, nas mulheres jovens a incidência ITU não complicadas mantêm-se em picos maiores devido:

- Existência de episódios prévios de infecções urinárias (Alós, 2005; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Rolo *et al.*, 2008; Raz e Naber, 2011);
- Exposição recente a antibióticos (Alós, 2005; Rolo *et al.*, 2008; Raz e Naber, 2011);
- Relações sexuais frequentes (Alós, 2005; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Rolo *et al.*, 2008; Raz e Naber, 2011);
- Uso de espermicidas, diafragma ou preservativo (Alós, 2005; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Rahn, 2008; Rolo *et al.*, 2008; Raz e Naber, 2011);
- Fatores genéticos associados (grupos sanguíneos, secretores e não secretores)(Alós, 2005; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Rahn, 2008; Rolo *et al.*, 2008; Raz e Naber, 2011; González-Chamorro *et al.*, 2012).

A prevalência de ITU na mulher é superior à do homem por questões anatómicas, sendo que a uretra fica muito próxima do ânus, e esta é também mais curta, favorecendo assim a colonização. Outro fator é o facto do ambiente envolvente à uretra ser mais seco no homem e a própria atividade antibacteriana do fluxo prostático (Almeida *et al.*, 2007; Maldaner *et al.*, 2011).

Considera-se ITU complicadas quando ocorre em:

- Idosos: no homem idoso além das modificações anatómicas (hiperplasia prostática), a ITU pode ser decorrente de estreitamento uretral. Na mulher idosa

ocorrem alterações fisiológicas (menopausa) (Alós, 2005; Hernández-Burruezo *et al.*, 2007);

- Mulheres grávidas: as infecções urinárias são mais frequentes e, muitas vezes na fase inicial da gravidez devido a alterações mecânicas e fisiológicas. Assintomáticas, podendo ter em alguns casos consequências graves para a mãe e para o feto, levando a uma maior frequência de infecções febris severas e possivelmente partos prematuros (González-Pedraza *et al.*, 2003; Pereira e Bordignon, 2011);
- Pacientes com cateterismo vesical: na última década, estudos demonstraram ser de grande importância a aderência e crescimento de bactérias na superfície interna do cateter, contribuindo para maior patogenicidade de ITU relacionada ao cateter de longa duração. Existem duas populações de microrganismos no trato urinário, uma que cresce na urina e outra que cresce à superfície do cateter (crescimento em biofilme). Nos pacientes com sonda vesical/cateterismo vesical é mais fácil alcançar o trato urinário por arrastamento mecânico ou pela duração da colocação do cateter (Almeida *et al.*, 2007; Andreu *et al.*, 2011);
- Pacientes com anomalia estrutural, funcional ou outros fatores de risco são consideradas complicadas: quando os mecanismos de defesa do hospedeiro se encontram comprometidos, faz com que estes doentes tenham uma probabilidade crescente de adquirir ITU e/ou de falhar o tratamento (Rahn, 2008).

1.1.4 Etiologia

A invasão do aparelho urinário saudável está condicionada a um grupo restrito de microrganismos (Alós, 2005; Rolo *et al.*, 2008) e mais de 95% das infeções são causadas por uma única espécie (infeção monomicrobiana) (Rolo *et al.*, 2008).

A maioria das infeções bacterianas resulta de microrganismos aeróbios Gram negativo provenientes do cólon, podendo ser enterobactérias da flora intestinal que colonizam a zona urogenital. Uma minoria de infeções possui uma etiologia exógena, isto é, são produzidas por microrganismos ambientais introduzidos nas vias urinárias durante a sua manipulação (Rolo *et al.*, 2008).

A etiologia manteve-se a mesma desde que a informação está disponível e varia dependendo do tipo de infeção (Andreu *et al.*, 2011). O agente mais frequente nas ITU, complicadas ou não, é a *E. coli*, responsável por aproximadamente 70 a 90% dos casos (Silva *et al.*, 2008; Tabibian *et al.*, 2008; Amadeu *et al.*, 2009; Cullerés *et al.*, 2010; Narciso *et al.*, 2011; Maldaner *et al.*, 2011). Além da *E.coli*, outros agentes uropatogenios estão associados a ITU tais como: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* (Hernández-Burruezo *et al.*, 2007; Narciso *et al.*, 2011) *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e leveduras, particularmente espécies de *Candida* (Sangrador *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2010).

1.1.5 *E. coli*

Enterobacteriaceae é uma família numerosa de microrganismos que fazem parte da flora intestinal normal dos seres humanos e dos animais (Ferreira e Sousa, 2000).

O género *Escherichia* inclui 7 espécies (*E. coli*; *Escherichia fergusonii*; *Escherichia hermannii*; *Escherichia vulneris*; *Escherichia blattae*; *Escherichia adecarboxylata*; *Escherichia albertii*), sendo a *E. coli*, vulgarmente designada por colibacilo, a mais comum e clinicamente mais importante (Ferreira e Sousa, 2000).

A *E. coli* são bacilos Gram negativo, móveis com flagelos peritricos ou imóveis, aeróbios/anaeróbios (anaeróbios facultativos), caracterizados por fermentar a lactose,

reduzir nitratos a nitritos, produzir indol, por possuir lisina descarboxilase (LDC) e ornitina descarboxilase (ODC) e ser oxidase negativa (Ferreira e Sousa, 2000).

Apesar de ser um habitante indígena do trato intestinal, algumas estirpes de *E. coli* podem ocasionar perturbações entéricas, entre as quais podemos destacar: *E. coli enterohemorrágica* (ocasiona colites hemorrágicas), *E. coli enteropatogénica* (associadas à diarreia do recém-nascido), *E. coli enteroinvasiva* (provocam diarreia aguda com sangue), *E. coli enterotoxígena* (produtoras de dois tipos de toxinas, termo-lábil e termo-estável, responsáveis pela chamada diarreia do viajante) (Turner *et al.*, 2006; Rajendran *et al.*, 2010; Behiry *et al.*, 2011).

A *E. coli*, é o principal agente de cistite devido à proximidade entre o trato gastrointestinal e trato urinário. Embora a maioria das estirpes coexista de forma simbiótica com o hospedeiro, existem algumas bactérias uropatogénicas que possuem fatores de patogenia específicos (Wiles *et al.*, 2008). Entre os principais fatores, destacam-se as adesinas, captação de ferro, síntese de citotoxinas (Yamamoto, 2007; Dhakal *et al.*, 2008; Cadieux *et al.*, 2009) e as invasinas ou outros elementos como as “ilhas de patogenicidade” que são genes responsáveis pelos fatores de patogenia que se encontram agrupados em fragmentos de DNA (Andreu *et al.*, 2011).

A *E. coli* tem a capacidade de aderir e invadir as células epiteliais, iniciar o processo infeccioso (criam biofilmes ou colónias), permanecerem protegidas do arrastamento pelo fluxo urinário e também da ação antimicrobiana das células imunitárias e dos antibióticos (Revdiwala *et al.*, 2012; Salvatore *et al.*, 2011; Schultz *et al.*, 2011). A capacidade de aderir às células uroepiteliais é conferida por fímbrias, estruturas que se projetam para fora da célula bacteriana. Algumas das fímbrias envolvidas no processo de aderência são as fímbrias do tipo-1 e do tipo P (Figura 2), diferem no tipo de adesinas que produzem e nos recetores celulares que reconhecem especificamente quer do epitélio da bexiga, quer do parênquima renal, respetivamente (Duarte, 2009).

Os mecanismos de modulação por parte das bactérias são importantes, porque escapam à fagocitose e permanecem num estado de latência até nova infeção, quando ocorre processo de esfoliação das células uroepiteliais, este processo normalmente está implicado nas infeções recorrentes (Mysorekar e Hultgren, 2006; Duarte, 2009).



Figura 2: Célula de *E. coli*, exibindo fímbrias P e flagelos (mais espessos) (Ferreira e Sousa, 2000).

1.2 Antimicrobiano

A maioria dos antibióticos são moléculas produzidas por microrganismos (ex: *Penicillium sp.*, *Streptomyces sp.*) com propriedades de antibiose contra outros microrganismos. Estes podem ser modificados quimicamente em laboratório, originando antibióticos semi-sintéticos (Ferreira e Sousa, 1998).

Presentemente, o termo antibiótico engloba todos os fármacos com ação antimicrobiana (Ferreira e Sousa, 1998).

Os antimicrobianos têm demonstrado uma eficácia inquestionável no tratamento das ITU, contudo, após a sua introdução na prática clínica, rapidamente se verificou que diferentes microrganismos eram capazes de adquirir resistência a fármacos aos quais eram inicialmente sensíveis (Giedraitiene *et al.*, 2011).

A resistência dos microrganismos aos diversos grupos de antimicrobianos tem vindo a aumentar ao longo dos anos, resultando num acréscimo da morbilidade e mortalidade (Ferreira e Sousa, 1998; Rahnema'i *et al.*, 2009).

1.2.1 Mecanismos de ação dos antimicrobianos

Os antimicrobianos podem inibir o crescimento e multiplicação dos microrganismos (bacteriostático) ou provocar a lise da bactéria (bactericida). Embora existam antibióticos que são caracteristicamente bactericidas e outros essencialmente bacteriostáticos, existem alguns que possuem simultaneamente características bacteriostáticas e bactericidas. A diferença de atividade está relacionada com o seu mecanismo de ação e também com as suas concentrações (Soriana-García, 2010).

A atividade antimicrobiana pode ser quantificada *in vitro* com base na determinação da concentração mínima do composto capaz de inibir o crescimento de um dado microrganismo – concentração mínima inibitória (CMI). Os resultados obtidos podem variar de acordo com as condições experimentais e o seu foco de infeção (Soriana-García, 2010).

Para um resultado confiável dos testes, tem que se utilizar uma metodologia padronizada, recomendada pelo grupo European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) e recomendado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (Cantón, 2010). O grau de eficácia de um antibiótico, depende do valor da CMI sendo caracterizado por (Rodloff *et al.*, 2008; Cantón, 2010):

- Sensível: quando o isolamento bacteriano é inibido *in vitro* por uma concentração de um antimicrobiano que é associado a uma elevada possibilidade de sucesso terapêutico;
- Sensibilidade intermédia: quando o microrganismo é inibido *in vitro* por uma concentração de antibiótico que está associada com um efeito terapêutico incerto.
- Resistente: quando o microrganismo é inibido *in vitro* por uma concentração de droga que está associada a elevadas possibilidades de fracasso terapêutico.

A resistência a três ou mais classes de antimicrobianos é denominada como multiresistência (Nseir *et al.*, 2005).

1.2.2 Antimicrobianos para ITU

Os antibióticos usados no tratamento de ITU têm um alvo na célula bacteriana e podem ser divididos/agrupados em várias classes, conforme está descrito na tabela 1 (Sousa, 2006):

Tabela 1: Principais grupos de antibióticos usados nas ITU (Sousa, 2006).

Antibióticos antiparientais (atuando a nível da síntese peptidoglicano)	Fosfomicina β-lactâmicos
Antibióticos inibidores da síntese proteica (associando-se a alvos ribossomais)	Aminoglicosídeos
Antibióticos inibidores da síntese dos ácidos nucleicos	Quinolonas
Antibióticos antimetabolitos	Sulfonamidas Trimethoprim
Nitrofuranos	Nitrofurantoína

1.2.2.1 Antibióticos antiparientais

Fosfomicina

Fosfomicina foi descoberto em 1969, isolado de estirpes de *Streptomyces fradiae* e presentemente é preparada por síntese química. É um antibiótico que atua na fase inicial da biossíntese do peptidoglicano, isto é, atua intracelularmente. O seu mecanismo de ação é bactericida dotado de toxicidade seletiva para a célula bacteriana. Dado o seu baixo peso molecular e o seu coeficiente de partilha atravessa facilmente a membrana exterior das bactérias Gram negativo e permeia a membrana citoplasmática através de

alfa-glicerofosfato permease e hexosefosfato permeases (Sousa, 2006; Popovic *et al.*, 2010; Michalopoulos *et al.*, 2011).

O sal trometamol tem sido usado com eficácia no tratamento de infecções urinária, numa única toma, isto tem vantagens, pois atinge menos a integridade da flora comensal intestinal, não promovendo a disseminação de resistências e consequentemente a possibilidade de reinfeções com estirpes resistentes aos antibióticos, levando a que tenha menos efeitos colaterais e a menores custos. A fosfomicina tem um amplo espectro antibacteriano sendo mais ativa contra bactérias Gram negativo do que Gram positivo (Sousa, 2006; Hernandez *et al.*, 2009; Michalopoulos *et al.*, 2011).

Antibióticos β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos constituem o grupo de antimicrobianos mais numerosos e de maior utilização na prática clínica (Navarro *et al.*, 2010; Sousa, 2006).

Têm uma utilização terapêutica generalizada dada a sua eficácia e baixa toxicidade para o organismo.

A estrutura básica consiste na presença do anel β -lactâmico, este anel é essencial na determinação dos mecanismos de ação (Ferreira e Sousa, 1998).

Os antibióticos β -lactâmicos são agentes bactericidas, que inibem a última fase da síntese do peptidoglicano, principal constituinte da parede celular. Para atuarem precisam que a bactéria se encontre na fase de multiplicação. Nas bactérias Gram positivo a camada glicopeptídica é espessa e externa a uma membrana celular única, enquanto nas bactérias Gram negativo a parede celular é mais fina e complexa, a camada glicopeptídica encontra-se revestida por uma membrana plasmática e a membrana celular externa (Figura 3). Desta forma, facilmente se compreende que os antibióticos β -lactâmicos atuam mais facilmente nas bactérias de Gram positivo (Sousa, 2006).

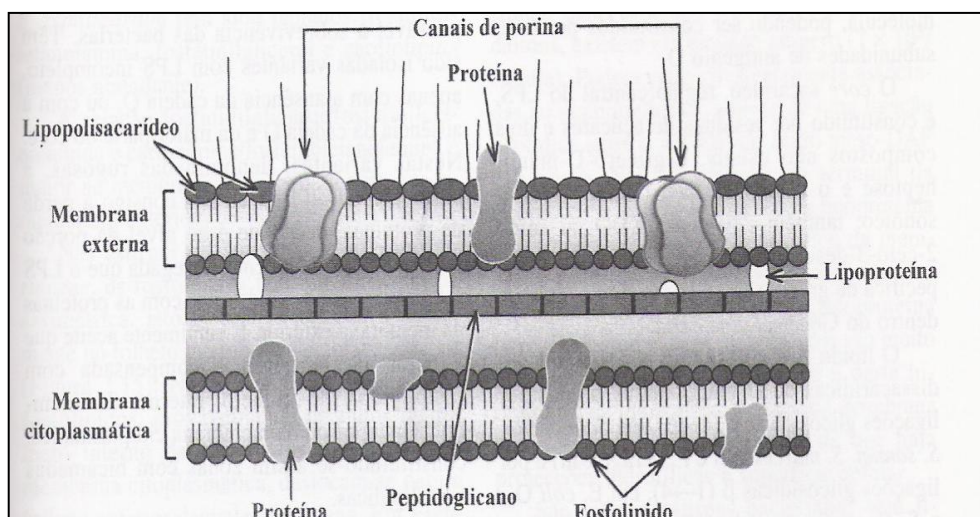


Figura 3: **Esquema molecular da parede celular das bactérias Gram negativo (Ferreira e Sousa, 1998).**

Os antibióticos β -lactâmicos estão divididos em seis grupos diferentes, as penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, cefamicinas, monobactâmicos e inibidores de β -lactamases (Navarro *et al.*, 2010).

As penicilinas foram os primeiros a serem introduzidos na prática clínica e continuam a desempenhar um papel importante no tratamento das infecções bacterianas. Habitualmente as penicilinas podem ser classificadas de acordo com o seu espectro de ação em benzilpenicilinas, aminopenicilinas, isoxazolilpenicilinas, penicilinas antipseudomonas e amidinopenicilinas (Caramona *et al.*, 2011).

As cefalosporinas estão quimicamente e farmacologicamente relacionadas com as penicilinas. A sua classificação em 4 classes baseia-se no seu espectro de atividade (Tabela 2). Assim as cefalosporinas de 1ª geração são ativas essencialmente sobre microrganismos Gram positivo sendo a sua atividade moderada contra Gram negativo. Quando se avança nas diferentes classes, o espectro para os microrganismos Gram negativo amplia-se (as cefalosporinas de 4ª geração são as mais ativas) mas perde-se alguma atividade contra microrganismos Gram positivo (Caramona *et al.*, 2011).

As cefamicinas (cefotixina e cefotetan) são habitualmente classificadas no grupo das cefalosporinas dado a sua grande semelhança farmacológica (Caramona *et al.*, 2011).

Tabela 2: Principais classes de cefalosporinas (Sousa, 2006).

1ª Geração	2ª Geração	3ª Geração	4ª Geração
Cefalotina/ Cefapirina	Cefamandol	Cefotaxima	Cefepime
Cefazolina	Cefaclor	Ceftazidima	Cefpiroma
Cefaloridina	Cefoxitina	Cefsulodina	
Cefalexina	Cefuroxima/ Acetil Cefuroxima	Cefoperazona	
Cefradina	Cefonicida	Ceftriaxona	
Cefadroxilo	Cefotetano	Cefodizima	
Cefatrizina		Cefixima	
		Ceftibuteno	
		Cefprozil	
		Cefetamet	
		pivoxil	
		Moxalactama	

Os carbapenemos são antibióticos de largo espectro, sendo resistentes à maioria das β -lactamases e ativos contra bactérias Gram negativo, Gram positivo e anaeróbios. Os carbapenemos estão representados pelo imipenemo, meropenemo e ertapenemo (Caramona *et al.*, 2011).

Os monobactâmicos são β -lactâmicos monocíclicos. O aztreonam é a única molécula comercializada deste grupo (Caramona *et al.*, 2011).

Penicilinas com inibidores de β -lactamases permitem alargar o espectro de atividade dos antimicrobianos, já que as β -lactamases produzidas por muitas estirpes bacterianas deixam, deste modo, de inativar os antimicrobianos em causa. Os principais inibidores de β -lactamases que fazem parte deste grupo são o ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam. Estas associações podem ser particularmente úteis no tratamento de infeções polimicrobianas causadas por bactérias Gram positivo, Gram negativo aeróbios ou anaeróbios. A associação da ticarcilina com o ácido clavulânico não se encontra disponível para uso clínico (Caramona *et al.*, 2011).

1.2.2.2 Antibióticos inibidores da síntese proteica

Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são bactericidas que atuam ao nível da síntese proteica, bloqueando irreversivelmente as subunidades dos ribossomas. Para exercer o seu efeito a nível do ribossoma é necessário que o antibiótico penetre, principalmente por transporte ativo, a parede e a membrana da célula bacteriana. Uma vez dentro da célula inibem a síntese proteica interagindo com a subunidade 30S do ribossoma levando a erro na leitura de ácido ribonucleico (RNA) mensageiro, provocando a lise das bactérias (Gonzalez III *et al.*, 1998; Mehta e Champney, 2002).

A gentamicina, tobramicina, netilmicina e ampicacina, representam antibióticos de largo espectro, utilizados habitualmente para tratar infeções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos anteriores, como é o caso das terapêuticas empíricas, infeções graves por bacilo Gram negativo, infeções nosocomiais e em especial nos doentes neutropénicos (Gonzalez III *et al.*, 1998; Caramona *et al.*, 2011).

Os aminoglicosídeos exibem algumas vantagens terapêuticas, nomeadamente: estabilidade metabólica, rápida ação bactericida, largo espectro de ação antibacteriana, sinergismo com β -lactâmicos, o que os torna uma mais valia no tratamento de doenças infecciosas (Gonzalez III *et al.*, 1998; Mehta e Champney, 2002; Sousa, 2006).

1.2.2.3 Antibióticos inibidores da síntese dos ácidos nucleicos

Quinolonas

As quinolonas começaram a ser utilizadas no tratamento das ITU na década de 60, com a descoberta acidental de um subproduto da cloroquina, que levou à síntese do ácido nalidíxico (Horcajada e Fariñas, 2005; Lamikanra *et al.*, 2011).

As quinolonas de primeira geração, apresentam atividade contra bactérias Gram negativo, o ácido nalidíxico constitui uma boa opção no tratamento da infeção urinária não complicada. As quinolonas de primeira geração possuem atividade moderada contra

Enterobacteriaceae e não possuem atividade contra bactérias Gram positivo, bactérias atípicas (*Chlamydia spp.*) e contra anaeróbios (Horcajada e Fariñas, 2005; Sousa, 2006).

Na década de 80, através da adição do átomo de flúor, originaram as denominadas quinolonas de segunda geração, fluoroquinolonas, sendo as principais representantes a ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina e lomefloxacina (Menezes *et al.*, 2009; Lamikanra *et al.*, 2011). As fluoroquinolonas apresentam mecanismos de ação bactericida de amplo espectro de ação e uma boa biodisponibilidade (Menezes *et al.*, 2009; Leroy *et al.*, 2011; Slekovec *et al.*, 2012).

As quinolonas de terceira geração (levofloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina e esparfloxacina) possuem ainda uma cadeia ciclopropil, e além de atuarem nos microrganismos sensíveis às quinolonas de segunda geração, possuem uma boa ação contra bactérias Gram positivo (Sousa, 2006; Lamikanra *et al.*, 2011).

As quinolonas de quarta geração (trovofloxacina) possuem uma boa atividade contra bactérias Gram negativo, Gram positivo e anaeróbios restritos (Sousa, 2006).

O grupo das quinolonas atuam inibindo a ação de duas enzimas: ácido desoxirribonucleico (DNA) girase (topoisomerase do tipo II) e topoisomerase IV que participam na síntese do DNA bacteriano (Navarro *et al.*, 2010). As quinolonas exercem a sua função ao quebrarem as ligações da dupla hélice de DNA, bloqueando de forma direta a sua replicação, inibindo a síntese de DNA e consequentemente acontece lise bacteriana (Menezes *et al.*, 2009; Lamikanra *et al.*, 2011).

1.2.2.4 Antibióticos antimetabolitos

Sulfametoxazol e Trimetropim (Cotrimoxazol)

As sulfonamidas foram a classe de agentes antimicrobianos introduzidos na clínica na década de 40, tendo sido utilizadas na medicina humana e veterinária (Guneyssel *et al.*, 2009; Mosquito *et al.*, 2011). As sulfonamidas têm um efeito bacteriostático, impedindo o crescimento bacteriano por carência de ácido fólico, indispensável para o crescimento celular.

A partir de 1968, a sulfonamida sulfametoxazol foram usadas na terapêutica associada ao trimetropim. Quando trimetropim e sulfametoxazol são usados em associação (respetivamente na proporção 1:5) denominada cotrimoxazol, parecem ter um efeito sinérgico e bactericida (Sousa, 2006; Ortiz *et al.*, 2011) Esta associação impede a biossíntese dos cofatores folatos, indispensáveis para a síntese dos ácidos nucleicos e proteínas, atuando em duas etapas sucessivas da mesma via metabólica. O trimetropim e sulfametoxazol demonstraram um largo espectro de atividade contra bactérias Gram positivo e Gram negativo. A sua eficácia antimicrobiana e o baixo custo rapidamente fizeram com que se tornassem antibióticos de eleição para o tratamento das infeções urinárias, sendo também utilizados em infeções do trato respiratório superior e infeções gastrointestinais. No entanto, as crescentes taxas de resistência entre os isolados microbianos foram aumentando durante as últimas décadas (Horcajada e Fariñas, 2005; Sousa, 2006).

1.2.2.5 Nitrofuranos

Nitrofurantoína

Nitrofurantoína é um agente específico para o tratamento e profilaxia da cistite e no passado foi considerado como um antiséptico das vias urinárias (Sousa, 2006; Maaland e Guardabassi, 2011).

O mecanismo de ação da nitrofurantoína não é bem conhecido, mas afeta vários sistemas enzimáticos bacterianos, que vão afetar os metabolismos, responsáveis pela síntese de DNA e RNA. Tem portanto uma atividade múltipla, o que justifica a baixa resistência bacteriana a este composto, apesar dos anos de utilização terapêutica. Tem um mecanismo de ação bacteriostático, mas com o aumento da sua concentração na urina tem uma ação bactericida (Sousa, 2006).

Como a ITU é uma infeção frequente, sobretudo nas mulheres por razões fisiológicas e anatómicas, a nitrofurantoína é muito utilizada, pelo que a sua utilização deve ser feita sob aconselhamento médico e não por automedicação (Sousa, 2006).

É um antibiótico com boa absorção oral e com eliminação urinária rápida, exercendo a sua atividade bactericida contra os agentes etiológicos da infecção urinária baixa (*E. coli*, *Citrobacter spp.*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter spp.* e *Enterococcus spp.*). Apresenta uma atividade antibacteriana nula contra *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* (Sousa, 2006).

1.2.3 Mecanismos de resistência aos antimicrobianos

As bactérias podem utilizar individualmente ou em associação vários mecanismos para impedir a ação letal dos antimicrobianos, tais como (Raghunath, 2008; Mosquito *et al.*, 2011; Giedraitiene *et al.*, 2011):

- Alteração do local de ação do antibiótico;
- Diminuição da concentração intracelular do antibiótico, impedindo a entrada do antibiótico, por impermeabilização da membrana celular, ou exportando o antibiótico através de bombas de efluxo. As bombas de efluxo são capazes de remover uma ou mais classes de antibióticos da célula podendo ser muito seletivas ou mesmo apresentar uma ampla especificidade para o substrato;
- Inativação do antibiótico, que ocorre na maior parte dos casos por ação enzimática, enzimas capazes de modificar antimicrobianos, nomeadamente β -lactamases.

A resistência de um dado microrganismo a determinado antimicrobiano pode ser classificada como intrínseca (natural) ou adquirida.

A resistência intrínseca faz parte das características inatas, fenotípicas do microrganismo, transmitida de geração em geração. Este tipo de resistência não apresenta qualquer risco à terapêutica, pois é previsível. Basta conhecer-se o agente etiológico da infecção e os mecanismos de ação dos antimicrobianos (Navarro *et al.*, 2010).

A resistência adquirida ocorre quando há aparecimento de resistência num microrganismo que anteriormente se mostrava sensível ao antibiótico em causa. A presença de novas enzimas é resultado de alterações estruturais ou bioquímicas da célula bacteriana, através de aquisição de material genético (aquisição de plasmídeos, sequências de inserção, transposões, integrões e fragmentos de DNA) por três mecanismos distintos, transformação, conjugação e transdução (Navarro *et al.*, 2010; Giedraitiene *et al.*, 2011). A transformação consiste na captação e introdução dentro da célula de DNA exógeno proveniente de outras células, por exemplo da lise de determinado microrganismo com libertação do seu material genético. A conjugação consiste num processo que requer contacto entre bactérias, em que uma das bactérias atua como dadora, transferindo através de um pilus sexual o material genético a outra célula, a célula recetora. A transdução envolve a transferência de genes entre bactérias, isto é, incorporação acidental de DNA bacteriano cromossómico ou plasmídico por um bacteriófago durante o processo de infeção celular (Ferreira e Sousa, 1998).

O uso persistente de determinado antibiótico pode, por pressão seletiva, levar à seleção de estirpes resistentes, diminuindo muito a eficácia de alguns antimicrobianos, causando falência terapêutica (Costa *et al.*, 2009).

1.2.4 Terapêutica antimicrobiana

Nos últimos anos, o uso frequente e inadequado dos antibióticos nos seres humanos e animais conduziu a uma crescente taxa de resistência por parte das bactérias patogénicas, consequentemente o tratamento da ITU tornou-se mais complexo (Sande-Bruinsma *et al.*, 2008; Meier *et al.*, 2011).

Na terapêutica antimicrobiana deve ter-se em conta o agente etiológico, o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, de forma a poder iniciar a terapêutica o mais rapidamente possível. Entretanto, para um agente etiológico o perfil de suscetibilidade pode variar entre países, pelo que é inadequado dar recomendações generalizadas.

Segundo Serna *et al.* (2011) os países com elevado uso de antibiótico, como Espanha e Portugal, apresentam taxas de resistência elevadas em comparação com países com uso

reduzido, como Holanda e Dinamarca onde as taxas de resistências são baixas (Serna *et al.*, 2011).

O conhecimento dos padrões de sensibilidade bacteriana que causam ITU é importante para selecionar uma terapêutica adequada empírica. A Infections Diseases Society of America (IDSA) recomenda que os clínicos procurem obter informações sobre as taxas de resistência locais e realizem estudos de vigilância periódicos para monitorizar as mudanças na sensibilidade a antimicrobianos, pois o tratamento das ITU é em geral estabelecido empiricamente sem cultura da urina (Alós, 2005).

O tempo de duração do tratamento tem vindo a diminuir, passando de regimes de cobertura antibiótica de 7 para 3 dias ou um dia, devendo ter-se em conta que regimes de curta duração são mais fáceis de cumprir, o seu custo é menor e diminuem a frequência de reações adversas. Porém, deve ter-se em conta o gasto adicional que pode representar a falha do tratamento ou o surgimento de recorrências (Rolo *et al.*, 2008).

Recentemente, a European Association of Urology, analisou diversos estudos dos quais retiraram algumas considerações (Tabela 3) (Rolo *et al.*, 2008):

- Cotrimoxazol – um regime de 3 dias é considerado o tratamento padrão das ITU não complicadas, são antimicrobianos de primeira linha em terapia empírica mas apenas nas zonas onde a resistência é inferior a 10-20%.
- Fluoroquinolonas – a ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, ofloxacina são equivalentes ao cotrimoxazol num regime de tratamento de 3 dias. São mais caras e não se recomendam como tratamento empírico de primeira linha, exceto em zonas onde as taxas de resistência sejam superior a 10-20%. Deve ter-se em conta o surgimento de resistência a este grupo de antimicrobianos.
- β -lactâmicos – como grupo são menos eficazes, as cefalosporinas orais de primeira e segunda geração não são recomendados como antimicrobianos de primeira linha em tratamento de 3 dias. Para amoxicilina/ácido clavulânico recomendam-se tratamento de 5-7 dias.

- Fosfomicina – um fármaco que embora se administre em dose única, proporciona níveis de antibióticos durante 3 dias. Um regime de dose única de tratamento é eficaz e as taxas de resistência mantêm-se baixas.
- Nitrofurantoina – é recomendado um tratamento de 5-7 dias com taxas de resistência baixas para ITU não complicadas. A nitrofurantoina é ativa para *E.coli* e não é ativa frente a *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela 3: Recomendações para a terapia antimicrobiana (Rolo *et al.*, 2008).

Terapia antimicrobiana	Duração do tratamento (dias)
Tratamento de 1ª escolha	
Fosfomicina trometamol 3g	Dose única
Nitrofurantoina 100mg/6 horas	5-7
Tratamento de 2ª escolha	
Cotrimoxazol (sulfametoxazol+Trimetropim), 800+160mg/12 horas (em regiões com resistência < 20%)	3
Quinolonas - ciprofloxacina 500mg/12horas; Norfloxacina 400mg/12horas e Levofloxacina 250mg/24horas (em regiões com resistência <20%)	3
Pivmecilinam 200mg/12horas	7
Tratamento de 3ª escolha	
Amoxicilina/ácido clavulânico 500+125mg/8horas	5
Cefixima 400mg/24horas	3
Sintomatologia com mais de 7 dias de evolução recomenda-se 7 dias de cotrimoxazol ou quinolona	

Na terapêutica de infeções bacterianas, a seleção do antimicrobiano deverá basear-se no conhecimento prévio do agente etiológico, ter uma toxicidade seletiva (sendo este apenas eficaz no agente causador da infeção sem causar efeitos colaterais, numa concentração tolerada pelo hospedeiro e que destrua o microrganismo causador da

infecção), boa taxa de absorção e eliminação e ainda um custo aceitável (Sousa, 2006; Caramona *et al.*, 2011).

O tratamento antimicrobiano nas ITU tem como objetivo o alívio dos sintomas, a erradicação total do agente etiológico e a prevenção de recorrências.

2. Objetivos

2. Objetivos

As ITU constituem um problema de saúde pública, sendo a segunda infecção bacteriana mais frequentes na comunidade. A *E. coli* o principal microrganismo causador de ITU.

O uso contínuo e imprudente de antibióticos levou ao aparecimento de resistência aos antimicrobianos, dificultando o tratamento apropriado e consequente aumento de gastos desnecessários, quer individuais, quer associados aos cuidados de saúde.

O presente estudo tem como objetivo:

- Relacionar as variáveis sexo e idade com o tipo de microrganismos;
- Identificar os microrganismos mais comuns causadores de ITU;
- Confirmar a *E. coli* como a estirpe mais frequente nas ITU;
- Conhecer o perfil de resistência dos isolados de *E. coli*.

3. Material e Métodos

3.1 População de estudo

Foram analisadas 1582 amostras bacteriológicas de urina, entre os meses de janeiro e dezembro de 2011, realizadas no Laboratório Moderno de Viseu, Lda.

Na secção de microbiologia do Laboratório Moderno de Viseu, Lda as amostras foram analisadas e avaliadas pelo exame direto, cultural e identificação bacteriana. Após termos identificado o microrganismo causador de infeção urinária, procedemos ao estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos. A identificação e o estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos foram efetuados com o sistema automatizado Mini API (BioMérieux, Inc).

3.2 Colheita de amostra de urina

Para garantir bons resultados microbiológicos, é fundamental realizar uma boa seleção, recolha e transporte das amostras, assim como um processamento adequado destas em função do tipo de paciente e da incidência das doenças infecciosas na área geográfica em causa. Todos estes fatores condicionam as técnicas habituais que se realizam no laboratório para atingir o diagnóstico etiológico da forma mais exata possível.

A amostra de urina pode ser obtida mediante micção espontânea, punção suprapúbica ou cateterismo vesical.

A micção espontânea é o método de eleição, sempre que não exista uma razão bem fundamentada para recorrer a outro método. Segundo este método a amostra deve obter-se preferencialmente da primeira micção da manhã, uma vez que, desta forma, permite a multiplicação das bactérias durante toda a noite na bexiga e alcançam-se contagens elevadas na urocultura. É muito importante instruir bem o paciente acerca de como se deve realizar a colheita, de modo a evitar a contaminação externa da urina (contaminação da pele, da mucosa uretral ou vaginal, no caso da mulher). Para tal, é recomendável lavar as mãos e os genitais com água e sabão, secar com gaze estéril ou com uma toalha limpa, separar os lábios maiores da vagina, na mulher ou retrair o prepúcio, no homem. A primeira e última parte da micção devem ser rejeitadas e recolhida a porção média num frasco estéril. No caso das crianças, após lavar muito bem

os genitais, deve-se colocar um saco coletor que deve ser substituído de 30 em 30 minutos até obtenção de urina, tendo o cuidado de esterilizar sempre que se mude o saco coletor.

A punção suprapúbica deve ser realizada apenas por pessoal experiente e está indicada nos seguintes casos:

- Lactentes ou crianças pequenas, nos quais fracassaram outras técnicas de colheita;
- Para resolver os casos duvidosos de contagem da cultura;
- Para estudar a presença de anaeróbios, que são muito pouco frequentes como patógenos urinários.

O cateterismo vesical realiza-se introduzindo assepticamente um cateter na bexiga, através da uretra. Não é um método recomendável, devido ao risco da introdução de bactérias na bexiga. As suas indicações reduzem-se a determinados pacientes que não podem urinar espontaneamente ou que se encontram imobilizados.

3.3. Transporte e conservação da amostra de urina

O transporte da amostra deverá ser o mais rápido possível, uma vez que a urina constitui um excelente caldo de crescimento microbiano, que pode ser, uma causa de falseamento de resultados.

Caso a amostra não possa ser processada, no mais curto espaço de tempo pode ser conservada a uma temperatura de 4°C durante 24 horas. Se necessário pode adicionar-se à amostra um conservante que detenha o crescimento bacteriano, podendo, assim, manter-se durante 48 horas sem que se altere a contagem.

Amostras de urina mantidas mais que duas horas à temperatura ambiente devem ser rejeitadas.

3.4 Processamento microbiológico das amostras de urina

A. Exame direto

Exame citológico do sedimento urinário: Observação microscópica (objetiva de 40x) de uma gota de sedimento urinário obtida após centrifugação de 10 ml de urina. A presença de bacteriúria abundante e piúria é sugestiva de infecções urinárias.

Coloração de Gram: É uma técnica clássica, muito utilizada em laboratórios de microbiologia é o primeiro passo na identificação das espécies bacterianas, dado o comportamento característico destas perante o método de Gram.

Sobre uma lâmina deposita-se uma gota de urina e, após seca e fixa, cora-se pelo método de Gram (Anexo 1).

Este método permite distinguir bactérias Gram positivo e Gram negativo, segundo a constituição da parede celular das bactérias. As bactérias Gram positivo possuem uma camada espessa de peptidoglicano, enquanto que, as bactérias Gram negativo possuem uma parede celular mais complexa e uma camada fina de peptidoglicano. As bactérias Gram positivo coram de violeta, enquanto que, as Gram negativo coram de vermelho pela safranina.

Este procedimento permite também visualizar a morfologia das bactérias e classificá-las em cocos e bacilos de Gram positivo ou negativo (Figura 4).

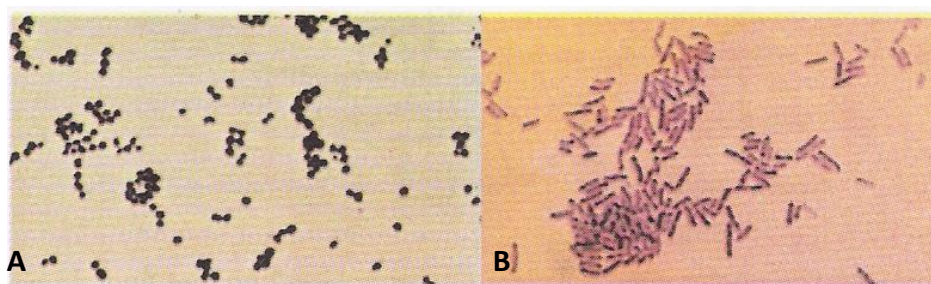


Figura 4: Coloração de Gram: bactérias de Gram positivo (A) e bactérias de Gram negativo (B) (Sousa, 2006).

B. Exame cultural

O meio utilizado neste estudo é o Gelose ChromID (CPS ID 3), meio cromogénico para contagem dos microrganismos urinários e identificação direta de *E. coli* e *Enterococcus*. Permite ainda a identificação do grupo de bactérias KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Citrobacter*) e do grupo Proteeae (*Proteus*, *Providencia* e *Morganella*).

A gelose de CPS ID 3 é constituída por uma base nutritiva que associa diferentes peptonas (porcina ou bovina) e dois substratos cromogénicos que permitem revelar a atividade enzimática correspondente. A revelação do indol é favorecida pela incorporação de triptofano na gelose.

A identificação direta das bactérias baseia-se no seguinte princípio:

- *E. coli*: coloração espontânea (rosa a vermelho escuro) das estirpes produtoras de β -glucuronidase (β -GUR);
- *Enterococcus*: coloração espontânea turquesa das estirpes que exprimem uma β -glucosidase (β -GLU);
- KESC: coloração espontânea verde a castanho-esverdeado das estirpes que exprimem uma β -GLU;
- Proteeae: coloração espontânea de castanha escuro a castanha das estirpes que exprimem uma desaminase.

As amostras foram semeadas em meio de cultura CPS ID 3 (Anexo 2). A incubação é feita a 37°C durante 18 a 24 horas, numa atmosfera de aerobiose.

Após a incubação, deve fazer-se a leitura e interpretação do número de colónias, conforme está descrito na tabela 4.

Tabela 4: Avaliação do crescimento bacteriano no meio CPS ID 3.

Resultados (nº de colónias)	UFC/ml de urina	Avaliação/Apreciação
<10	<10 ³	Contaminação provável
Entre 10 e 100	≥10 ⁴ e ≤10 ⁵	Exame duvidoso
>100	>10 ⁵	Infeção provável

C. Identificação bacteriana

O sistema usado para as identificações, foi o sistema automático mini API.

As provas bioquímicas foram realizadas pelas galerias rapid ID 32E, um sistema padronizado para a identificação das *Enterobacteriaceae* (Gram negativo e oxidase negativa) e para algumas bactérias não enterobacteriaceas, oxidase positiva (*Acinetobacter*, *Pseudomonas* e *vibrio*), engloba 32 cúpulas que contêm um meio reacional desidratado. As cúpulas são inoculadas com uma suspensão bacteriana que reconstitui os testes. A inoculação da galeria deve ser realizada da seguinte forma:

- Na ampola de API NaCl 0,85% Medium, inserir algumas colónias e efetuar uma suspensão de opacidade equivalente a 0,5 na escala MacFarland, medido pelo Densimat;
- Inocular a galeria distribuindo 55µl de suspensão;
- Cobrir os testes URE, LDC, ODC com 2 gotas de óleo de parafina;
- Incubar a 36º C +/- 2ºC, durante 4 a 4:30 horas.
- No final da incubação, adicionar uma gota de reagente de JAMES na reação IND, para observar a reação oxidase.

As reações produzidas durante o período de incubação manifestam-se por viragens espontâneas de cor. A leitura destas reações é executada no sistema automático mini API, onde efetua as medidas e transfere-as para o computador onde o software estabelecerá o perfil bioquímico correspondente, identificando qual o microrganismo em causa.

D. Estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos

Para o estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos utilizou-se a galeria rapid ATB E 4, permite determinar a sensibilidade das enterobactérias aos antimicrobianos.

A galeria rapid ATB E 4 contém 32 cúpulas, as 2 primeiras sem antibiótico, servem de padrão de cultura e as 30 seguintes contêm quantidade conhecidas de um antibiótico específico, possibilitando a determinação da CMI.

Partindo de uma cultura pura, preparar uma suspensão com uma densidade equivalente de 0,5 na escala de MacFarland, proceder à inoculação da galeria rapid ATB E 4 e incubar a 36°C durante 4 horas 30+/- 15 minutos. Findo o tempo de incubação a leitura é avaliada pelo sistema automático Mini API, que efetua para cada antibiótico a medida, o cálculo do índice de crescimento e a comparação com o limite. Os resultados das CMI, são traduzidos em duas categorias clínicas: Sensível e Resistente (sendo os Intermédios incluídos na categoria de Resistente).

Os agentes antimicrobianos testados com a utilização da galeria rapid ATB E 4 foram: Ampicilina; Amoxicilina/Ácido clavulânico; Ticarcilina; Ticarcilina/Ácido clavulânico; Piperacilina; Piperacilina+Tazobactam; Imipenemo; Cefalotina; Cefazolina; Cefoxitina; Cefamandol; Acetil Cefuroxima; Cefuroxima; Ceftriaxona; Ceftazidima; Cefepime; Gentamicina; Tobramicina; Netilmicina; Amicacina; Cotrimoxazol; Ácido Nalidixico; Norfloxacin; Ofloxacin; ciprofloxacina; Levofloxacina; Fosfomicina e Nitrofurantoina.

4. Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1 Exame bacteriológico da urina

Durante o período de estudo deram entrada no setor de Microbiologia do Laboratório Moderno de Viseu Lda, 1582 amostras de urina com pedido de exame bacteriológico. Destas, 1397 (88,3%) foram negativas e 185 (11,7%) tiveram um resultado positivo (Figura 5).

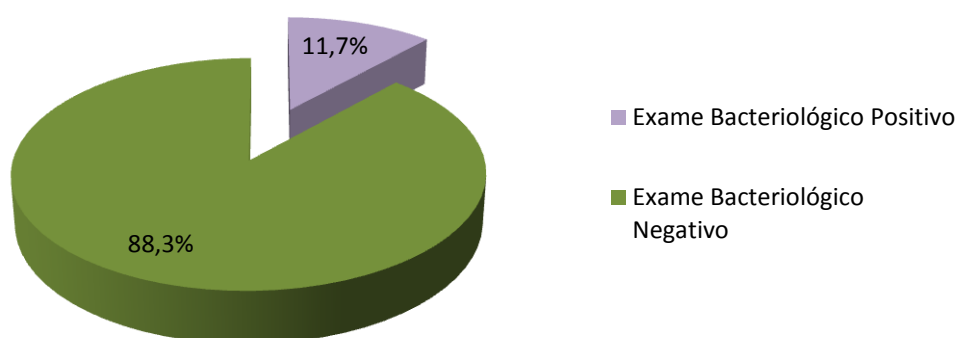


Figura 5: Percentagem da distribuição do exame bacteriológico com resultado positivo e negativo.

Neste estudo, obtivemos um grande número de amostras negativas, estes resultados poderão ser consequência de urinas colhidas: após o início do tratamento, no final do tratamento, como exame de rotina (pedido frequente nas grávidas), ausência de ITU e ainda incumprimento das regras de colheita e transporte.

Outros estudos, como o de Correia *et al.* (2007), o de Martins *et al.* (2010) e o de Oliveira e Nogueira. (2011), também obtiveram um elevado número de amostras negativas (Correia *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2010; Oliveira e Nogueira, 2011).

4.2 Distribuição por sexo

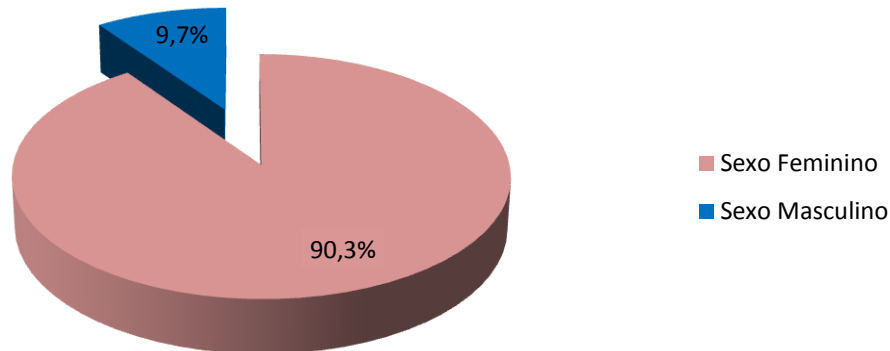


Figura 6: Distribuição do exame bacteriológico positivo segundo o sexo.

Das 185 amostras positivas, o sexo feminino registou 90,3% dos casos, enquanto que, o sexo masculino registou 9,7% dos casos (Figura 6), o que está de acordo com estudos realizados por González-Pedraza *et al.* (2003), Correia *et al.* (2007), Mendo *et al.* (2008), Costa *et al.* (2009), Martins *et al.* (2010), Lopes *et al.* (2010) e Maldaner *et al.* (2011). A maior incidência no sexo feminino deve-se às diferenças anatómicas entre os dois géneros. A uretra da mulher é mais curta do que a do homem e está mais próxima da região vaginal e perianal, o que facilita a colonização por bactérias. No homem, a ação antibacteriana do líquido prostático atua como protetor das ITU (Mendo *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2010).

4.3 Distribuição da infecção urinária por faixa etária

A faixa etária com maior frequência de ITU é na faixa dos 61-75 anos em ambos os géneros. No sexo feminino também há uma grande incidência de infecção urinária na classe 31-45 e 46-60 e ≥ 76 anos (Figura 7).

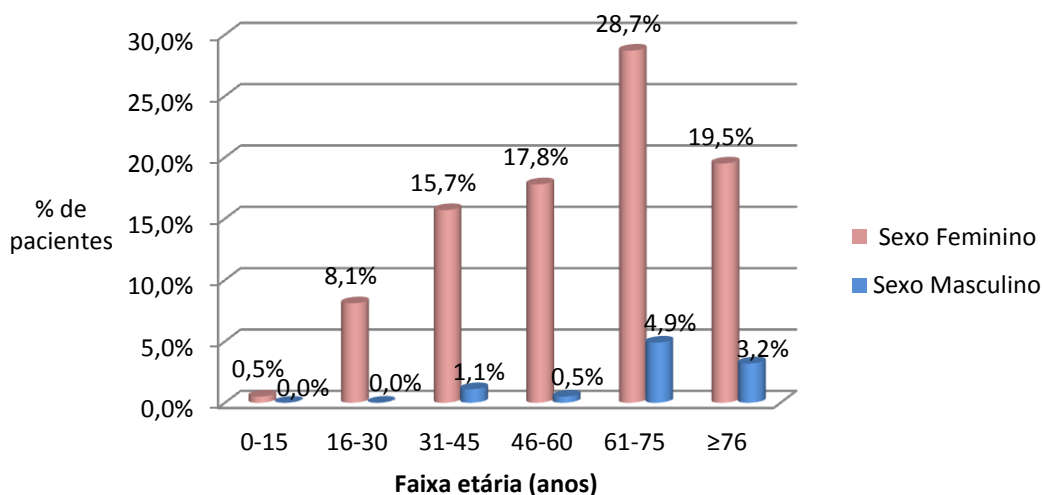


Figura 7: Distribuição das infecções urinárias por faixa etária e por sexo.

Na faixa etária dos 31-45 anos de idade, o sexo feminino registou 15,7% dos casos (Figura 7) de ITU. Este resultado pode ser explicado pelo facto de nesta faixa etária coincidir o pico de atividade sexual da mulher (Mendo *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2010) e também ser nesta faixa etária em que a gravidez é mais frequente. A utilização de métodos contraceptivos como diafragma e/ou espermicidas aumenta o risco de ITU, uma vez que podem provocar alterações da flora bacteriana local e/ou impedir o esvaziamento por completo da bexiga (Costa *et al.*, 2009).

Na faixa entre 46-60 anos (Figura 7), o número de casos de ITU no sexo feminino aumenta, podendo este aumento estar associado às alterações da flora vaginal próprias desta idade (menopausa) (Costa *et al.*, 2009).

Nas faixas etárias 61-75 e ≥ 76 anos de idade (Figura 7) a incidência de ITU aumenta em ambos os sexos, o aumento desta incidência pode estar relacionada ao aumento da debilidade do sistema imunitário, eventuais limitações de hábitos de higiene e alterações

anátomo-funcionais da bexiga entre homens e mulheres (Costa *et al.*, 2009; Narciso *et al.*, 2011).

Comparando os resultados obtidos neste estudo com um estudo realizado em 3 cidades do estado de Santa Catarina, Brasil, verificaram-se algumas divergências. Neste estudo realizado por Maldaner *et al.* (2011) verificou-se que a faixa etária predominante de pacientes com ITU foi dos 21-40 anos, contrariamente ao presente estudo em que a classe com maior frequência foi dos 61-75 anos (Maldaner *et al.*, 2011). Estes resultados podem dever-se ao facto das mulheres mais jovens não recorrerem com tanta frequência ao laboratório e também ao envelhecimento da população (Narciso *et al.*, 2011).

Num estudo realizado por Costa *et al.* (2009) verificou-se que a faixa etária, entre os 56 e os 75 anos, foi a que apresentou a maior frequência de ITU (Costa *et al.*, 2009). Estes resultados são semelhantes aos obtidos neste estudo, onde a faixa etária entre os 61-75 anos apresenta um maior número de casos de ITU, 28,7% no sexo feminino e 4,9% no sexo masculino (Figura 7).

Mendo *et al.* (2008), num estudo realizado no primeiro semestre de 2006, registou que em ambos os sexos, as faixas etárias onde se verificou maior frequência de ITU foi em primeiro lugar a faixa etária dos 71-80 anos e em segundo lugar a faixa etária dos 61-70 anos (Mendo *et al.*, 2008). No estudo apresentado (Figura 7) o resultado é inverso, em primeiro lugar encontra-se a classe etária 61-75 anos, e em segundo lugar a classe etária ≥ 76 anos. Estes resultados, contudo, podem demonstrar que nestas faixas etárias há um aumento da incidência de ITU estando este aumento associado a algumas alterações tais como: obstrução parcial das vias urinárias, manipulação, diminuição do fluxo urinário e a anomalias metabólicas resultantes da idade (Mendo *et al.*, 2008).

Lopes *et al.* (2010), num estudo, compreendido entre maio de 2008 e abril de 2009, também verificou uma maior frequência de ITU nas faixas etárias acima dos 60 anos, independente do sexo do indivíduo. A deficiência estrogénica pós-menopausa nas mulheres e os quadros de carcinoma prostático ou hiperplasia benigna da próstata nos homens pode ser uma das causas do aumento a incidência de ITU (Lopes *et al.*, 2010).

No presente estudo, observou-se que em todas as faixas etárias a frequência de exames bacteriológicos positivos em indivíduos do sexo feminino é mais elevada (Figura

7). Costa *et al.* (2009) obteve resultados semelhantes tendo também obtido uma maior frequência de uroculturas positivas no sexo feminino nas diferentes faixas etárias (Costa *et al.*, 2009).

4.4 Identificação das estirpes isoladas

Das 185 amostras positivas, a *E.coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram as estirpes bacterianas que mais infecções urinárias causaram, como se pode demonstrar na tabela 5.

Tabela 5: **Microrganismos isolados nos exames bacteriológicos positivos.**

Agente Isolado	Percentagem (%)
<i>E. coli</i>	85,5%
<i>Proteus mirabilis</i>	3,8%
<i>Citrobacter spp</i>	1,1%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8,1%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,5%
<i>Morganella morganii</i>	0,5%
<i>Streptococos β-hemolitico</i>	0,5%

Neste estudo, observou-se que a *E. coli* foi o agente etiológico isolado em mais casos de infecção urinária (85,5%), seguindo-se a *Klebsiella pneumoniae* e o *Proteus mirabilis* (8,1% e 3,8% respetivamente). Os agentes bacterianos menos frequentes foram a *Klebsiella oxytoca*, a *Morganella morganii* e o *Streptococcus β -hemolitico* (com 0,5%) (Tabela 5).

Dos exames bacteriológicos de urina considerados positivos em 85,5% destes a *E. coli* foi o agente etiológico isolado (Tabela 5), sendo esta percentagem superior à obtida por: Lopes *et al.* (2010) com 44,7%; Mendo *et al.* (2008) com 63,6%; Correia *et al.* (2007) com 68,4%; Silva *et al.* (2008) com 73,3%; Martins *et al.* (2010) com 73,3%; Santos *et al.* (2008) com 77,0%; Figueiredo *et al.* (2008) com 78,4% (Correia *et al.*, 2007; Figueiredo *et al.*, 2008; Mendo *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2010). As diferenças de percentagem que se verificam podem ser devido ao tipo de população e à região estudada.

Tal como noutros estudos verificou-se que *E. coli* foi a principal bactéria identificada nas ITU, o que se pode justificar pelo facto deste microrganismo além de colonizar o trato gastrointestinal, possuir características estruturais e capacidade de invasão do epitélio vesical que lhe permitem ascender e permanecer no trato urinário, diferenciando-se de outras bactérias da família das Enterobacteriaceae, como *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* encontrados em percentagens muito inferiores (Narciso *et al.*, 2011).

Os valores encontrados neste estudo para *Proteus mirabilis* (3,8%) e *Klebsiella pneumoniae* (8,1%) (Tabela 5), são semelhantes aos do estudo realizado por Martins *et al.* (2010) (Martins *et al.*, 2010).

Tal como no presente estudo, também Costa *et al.* (2009), constatou que a *E. coli*, *Proteus mirabilis* e a *Klebsiella spp.* foram as três principais bactérias causadoras de ITU. Os antibióticos usados empiricamente no tratamento de ITU, devem ter um espectro de ação para enterobactérias, pois são as mais prováveis de se encontrarem numa ITU adquirida na comunidade (Costa *et al.*, 2009).

4.5 Distribuição das estirpes isoladas por sexo

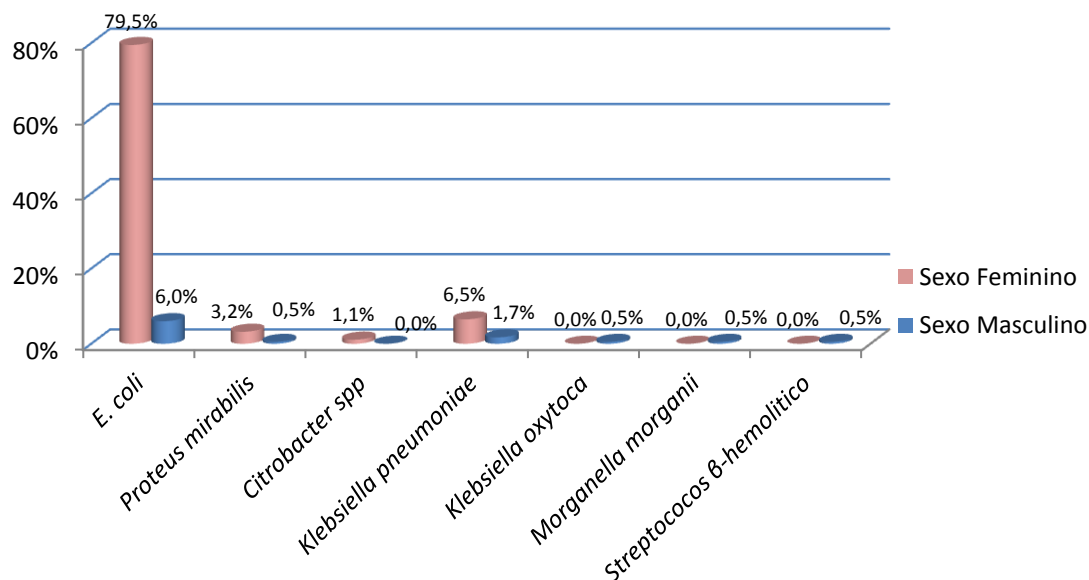


Figura 8: Frequência de agentes causadores de ITU por sexo.

Das amostras que integram este estudo averiguámos que as ITU foram causadas principalmente por estirpes de *E. coli* em ambos os sexos, verificámos que no sexo masculino predominam outros microrganismos, tais como, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii* e *Streptococcus β-hemolitico* (Figura 8).

Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos entre maio e setembro de 2006 por Santos *et al.* (2008), estes verificaram que apesar da *E. coli* ser sempre o gérmen predominante no caso do sexo masculino a frequência de casos positivos foi significativamente menor quando comparada com a encontrada no sexo feminino (Santos *et al.*, 2008). Esta tendência foi verificada também por Rabiais *et al.* (2010), este facto está de acordo com a prevalência de outras bactérias nas secreções prostáticas de homens com ITU (Rabiais *et al.*, 2010).

4.6 Resistência de *E. coli* aos antimicrobianos

Sendo a *E. coli* o agente etiológico mais isolado, nos 185 casos de exames bacteriológicos de urina positivos deste estudo, foi analisada o seu perfil de resistência a diversos antimicrobianos.

4.6.1 Resistência de estirpes de *E. coli* aos antimicrobianos estudados

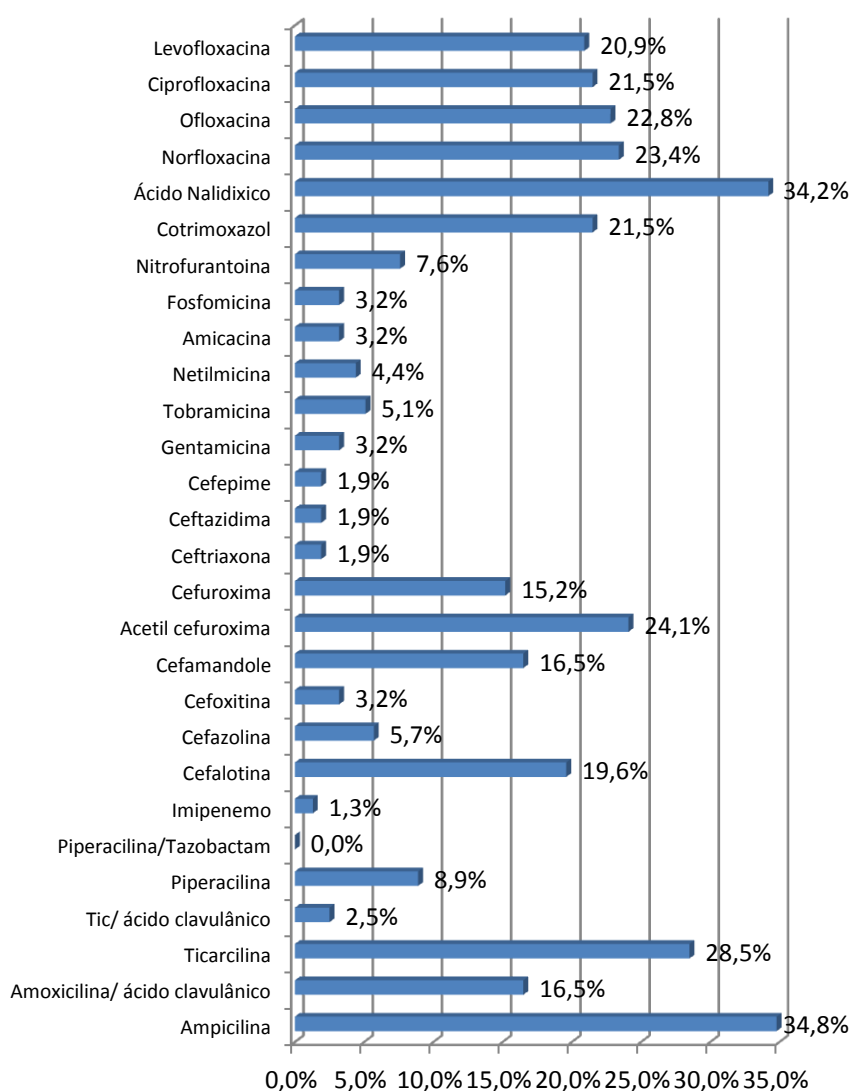


Figura 9: Perfil da resistência das estirpes de *E. coli* aos antimicrobinos

Dos antimicrobianos estudados os que apresentaram maior resistência à *E. coli* foram, o grupo das penicilinas (ampicilina 34,8%, ticarcilina 28,5% e amoxicilina/ácido clavulânico 16,5%) e o grupo das quinolonas (ácido nalidíxico 34,2%, norfloxacin 23,4%, ofloxacin 22,8%, ciprofloxacina 21,5% e levofloxacina 20,9%). Também se verificou alguma resistência desta bactéria ao grupo das cefalosporinas (acetil cefuroxima 24,1%, cefalotina 19,6%, cefamandole 16,5%, e cefuroxima 15,2%) e das sulfonamidas (cotrimoxazol 21,5%) (Figura 9).

Os valores encontrados neste estudo estão de acordo com um estudo realizado por Costa *et al.* (2009) em que se verifica uma fraca suscetibilidade da *E. coli* à ampicilina, ao ácido nalidíxico, ao trimetropim+sulfametoxazol e à ciprofloxacina, maioritariamente atribuída ao uso inadequado destes antimicrobianos (Costa *et al.*, 2009).

A ampicilina foi o antibiótico ao qual a *E. coli* mostrou maior resistência, estando este resultado de acordo com um estudo realizado por Figueiredo *et al.* (2008), no Hospital Infante D. Pedro durante o período 2005-2006, onde a resistência desta bactéria à ampicilina foi de 45% (Figueiredo *et al.*, 2008). Também num estudo realizado entre maio e setembro de 2008 por Santos *et al.* (2008) verificou-se que a ampicilina foi o antimicrobiano ao qual a *E. coli* se mostrou menos sensível (Santos *et al.*, 2008).

Ao compararmos a distribuição percentual da resistência de *E. coli* à amoxicilina (16,5%) e ao cotrimoxazol (21,5%) (Figura 9), obtida neste estudo com outros estudos semelhantes, tais como os realizados por: Silva *et al.* (2008), com percentagem de resistência à amoxicilina de 37,9% e ao cotrimoxazol de 23,5%, e Narciso *et al.* (2011), com percentagem de resistência à amoxicilina de 49,5% e ao cotrimoxazol de 25,6%, verificamos que neste estudo a *E. coli* apresenta valores mais baixos de resistência a estes dois antimicrobianos (Silva *et al.*, 2008; Narciso *et al.*, 2011).

A *E. coli* apresentou os níveis de resistência mais baixos para o imipenemo (1,3%), para a ceftriaxona, ceftazidima e cefepime (1,9%), para a ticarcilina/ácido clavulânico (2,5%), para a fosfomicina, amicacina, ceftoxitina e gentamicina (3,2%) (Figura 9). Também Correia *et al.* (2007), verificou que o imipenemo foi um dos antibióticos testados ao qual a *E. coli* apresentou menor resistência (Correia *et al.*, 2007).

4.6.2 Resistência de estirpes de *E. coli* ao grupo dos β -lactâmicos

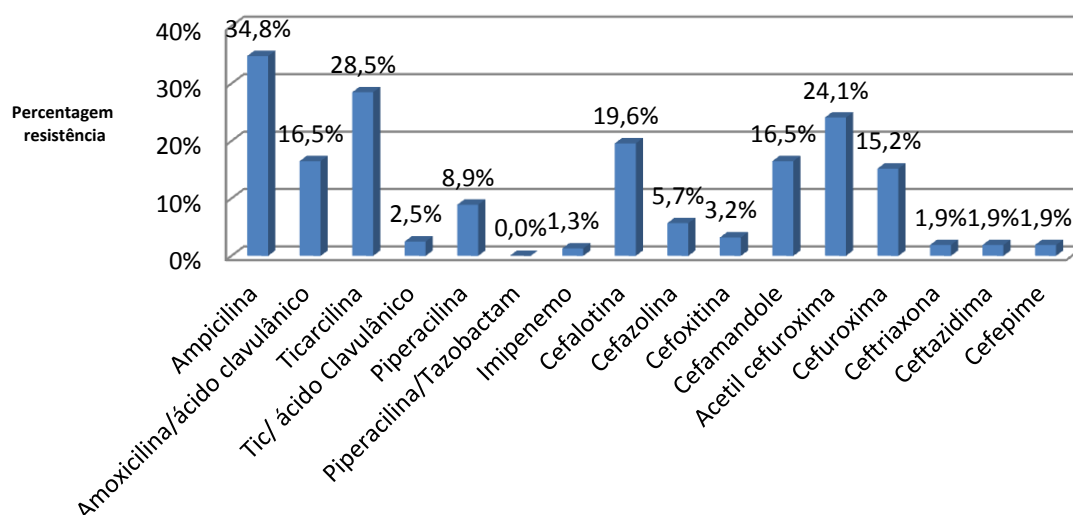


Figura 10: Perfil de resistências de *E. coli* ao grupo dos β -lactâmicos.

No grupo dos β -lactâmicos, representados na figura 10, foram um dos grupos de antibióticos que apresentaram a percentagem de resistência mais elevada (ampicilina 34,8%, ticarcilina 28,5% e acetil cefuroxima 24,1%). A alta resistência das estirpes de *E. coli* aos antimicrobianos β -lactâmicos pode estar relacionada com a presença de enzimas β -lactamases, que hidrolisam o anel β -lactâmico (Costa et al., 2009).

Estudos publicados recentemente identificaram que a fraca ação das penicilinas face à *E. coli*, pode estar relacionada com a alta prevalência de β -lactamases, o que torna o seu uso desaconselhado, quando não associado com um inibidor destas enzimas como é o caso da associação amoxicilina/ ácido clavulânico (Correia et al., 2007; Costa et al., 2008; Martins et al., 2010).

As combinações de β -lactâmicos com inibidores de β -lactamases estudadas neste trabalho foram a associação de a amoxicilina/ácido clavulânico (16,5%), a de ticarcilina/ácido clavulânico (2,5%) e da piperacilina/tazobactam (0,0%)(Figura 10). A *E. coli* apresentou uma resistência significativa à combinação amoxicilina/ácido clavulânico,

que pode alertar para o possível aumento de resistência desta bactéria a este tipo de combinações.

O grupo dos carbapenemos, representado pelo imipenemo, apresenta percentagens de resistência mais baixa (1,3%) (Figura 10), serão possivelmente menos prescritos no tratamento de ITU causadas por bacilos de Gram negativo as estirpes de *E. coli* apresentam por isso, percentagens reduzidas. Estudos recentes associados ao imipenemo demonstram que o seu sucesso terapêutico pode ser atribuído à rápida penetração do antimicrobiano na célula bacteriana e à sua elevada afinidade pelas proteínas que se ligam à penicilina, mecanismos de ação deste antibiótico (Maldaner *et al.*, 2011).

Do grupo das cefalosporinas foram estudadas as cefalosporinas de 1ª geração (cefalotina e cefazolina), 2ª geração (cefoxitina, cefamandol, acetil cefuroxima e cefuroxima), 3ª geração (ceftriaxona e ceftazidima) e 4ª geração (cefepime). Neste estudo podemos observar que a *E. coli* apresentou maior resistência às cefalosporinas de 1ª e 2ª geração em relação às de 3ª e 4ª geração (Figura 10), isto pode dever-se ao facto de à medida que se avança nas diferentes gerações de cefalosporinas o espectro se ampliar para as bactérias Gram negativo (Caramona *et al.*, 2011).

4.6.3 Resistência de estirpes de *E. coli* à fosfomicina

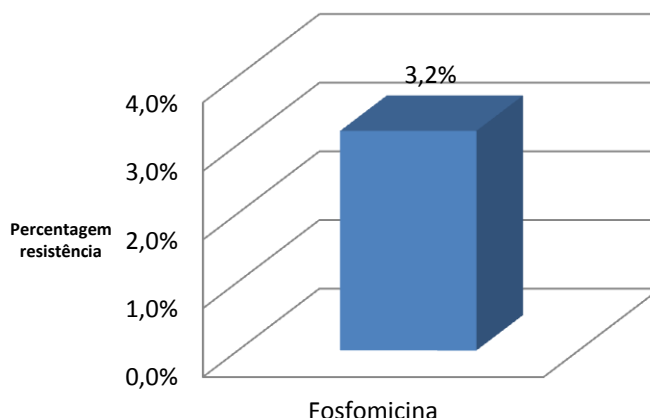


Figura 11: Perfil de resistências de *E. coli* à fosfomicina.

Tal como se pode verificar na figura 11 a resistência de *E. coli* à fosfomicina foi reduzida (3,2%), a baixa resistência desta bactéria a este antibiótico torna-o uma boa opção para o tratamento empírico de infeções não complicadas (Rabanaque *et al.*, 2011). A fosfomicina tem como mecanismo de ação atuar na síntese do peptidoglicano, sendo este um componente essencial da parede bacteriana na forma de trometamol (amina orgânica), e que não é inativada pela acidez estomacal, levando uma maior biodisponibilidade. Sendo este antibiótico de toma única, após quatro horas da sua ingestão atinge uma concentração 350 vezes superior à concentração mínima necessária para a inibição de *E. coli*, permanecendo em concentrações elevadas até às 48 e 74 horas, o que facilita a eliminação do agente etiológico, impedindo o desenvolvimento de estirpes multirresistentes (Narciso *et al.*, 2011).

Silva *et al.* (2008), num estudo realizado entre abril e junho de 2008, verificou que a *E. coli* apresenta uma taxa de resistência reduzida (0,6%) à fosfomicina. A fosfomicina apesar de ser administrado em dose única, apresenta uma eficácia igual ou superior em comparação com outros tratamentos mais prolongados e permite manter níveis de antibiotico efetivos durante 3 dias, o que facilita o cumprimento terapêutico evitando o aparecimento de infeções recidivas e o aparecimento de estirpes resistentes, tudo isto

torna este antibiótico uma escolha de primeira linha no tratamento de cistites não complicadas (Silva *et al.*, 2008).

Recentemente um estudo, realizados por Pereira e Bordignam (2011), apresenta percentagens de resistência de *E. coli* à fosfomicina nulas, confirmando esta como um bom agente bactericida, com um amplo espectro de ação, já que age tanto contra bactérias Gram negativo quanto contra bactérias Gram positivo (Pereira e Bordignam, 2011).

4.6.4 Resistência de estirpes de *E. coli* ao grupo dos aminoglicosídeos

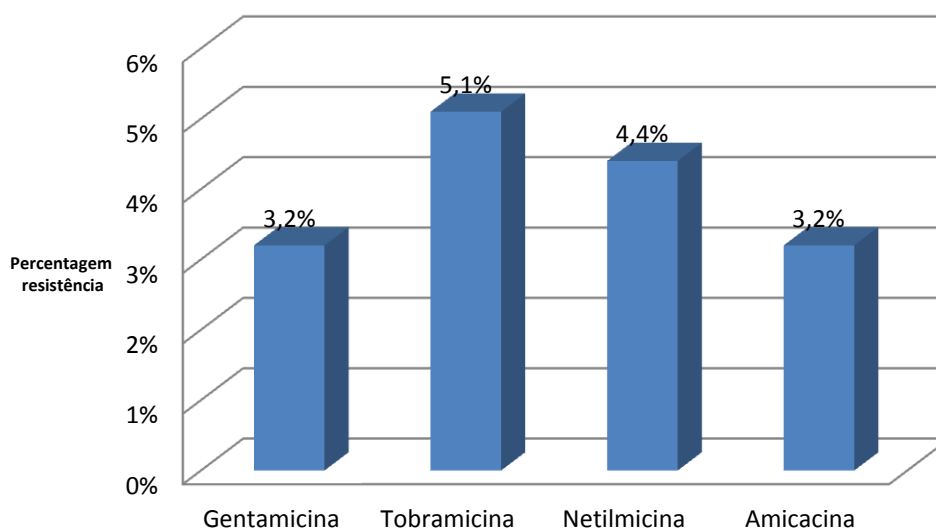


Figura 12: Perfil de resistências de *E. coli* ao grupo aminoglicosídeos.

Do grupo dos aminoglicosídeos foi analisada a resistência de *E. coli* à tobramicina, à netilmicina, à gentamicina e à amicacina tendo apresentado uma resistência de 5,1%, 4,4%, 3,2% e 3,2% respetivamente (Figura 12).

Neste estudo, verificou-se que a *E. coli* apresenta resistências baixas ao grupo dos aminoglicosídeos, pois segundo Costa *et al.* (2009), estes antimicrobianos apresentam um amplo espectro e uma boa atividade face aos bacilos Gram negativo (Costa *et al.*, 2009).

4.6.5 Resistência de estirpes de *E. coli* ao grupo das quinolonas

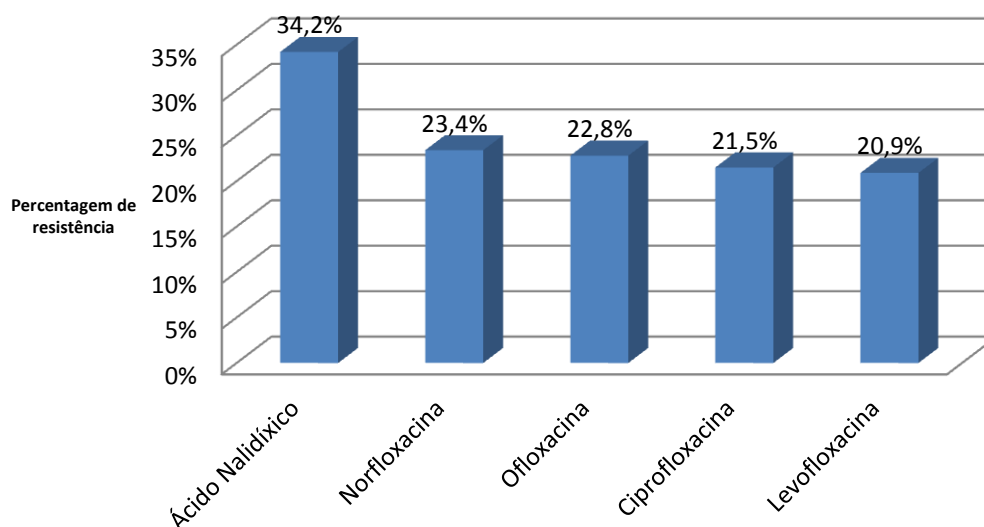


Figura 13: Perfil de resistências de *E. coli* ao grupo das quinolonas.

Neste estudo quando analisada a resistência de *E. coli* aos antimicrobianos do grupo das quinolonas, representado pelo ácido nalidíxico, pela norfloxacin, pela ofloxacin, pela ciprofloxacin e pela levofloxacin, foi este o grupo que apresentou as percentagens mais elevadas de resistência, entre 20,9 a 34,2%. Os resultados obtidos revelam uma maior percentagem de resistência às quinolonas de 1ª geração (ácido nalidíxico) com 34,2% em relação às quinolonas de 2ª geração (norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin e levofloxacin) (Figura 13).

A resistência de *E. coli* a este grupo de antimicrobianos é bastante significativa, sendo os resultados deste estudo concordantes com um estudo realizado na região do Vale do Sousa e Tâmega, durante o período de fevereiro de 2008 e janeiro de 2009. Este estudo registou uma alta taxa de resistência a este grupo das quinolonas, podendo esta elevada resistência ser explicada pelo elevado consumo destes antimicrobianos desde a sua introdução no mercado (Martins *et al.*, 2010).

Segundo Silva *et al.* (2008), a ciprofloxacin e a norfloxacin, são os antimicrobianos do grupo das quinolonas mais frequentemente prescrito para o tratamento da ITU (Silva *et al.*, 2008).

Segundo Oliveira e Nogueira. (2011), dada a alta resistência de *E. coli* às quinolonas, a sua utilização como antimicrobianos de primeira escolha no tratamento da ITU deve ser revista (Oliveira e Nogueira, 2011).

Alguns estudos chamam à atenção para o uso frequente dos antimicrobianos do grupo das quinolonas, no tratamento da ITU podendo ser um dos fatores responsáveis para o problema do aumento de resistência às fluorquinolonas (Silva *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2009; Maldaner *et al.*, 2011; Barros *et al.*, 2011).

A alta resistência do grupo das quinolonas pode atribuir-se à sua utilização massiva e incontrolada na prática clínica e veterinária desde a sua introdução comercial, facto este comprovado por um estudo realizado por Sangrador *et al.* (2005), onde constatou que Portugal era o país europeu com maior taxa de utilização destes antimicrobianos (Sangrador *et al.*, 2005).

4.6.6 Resistência de estirpes de *E. coli* ao grupo das sulfonamidas

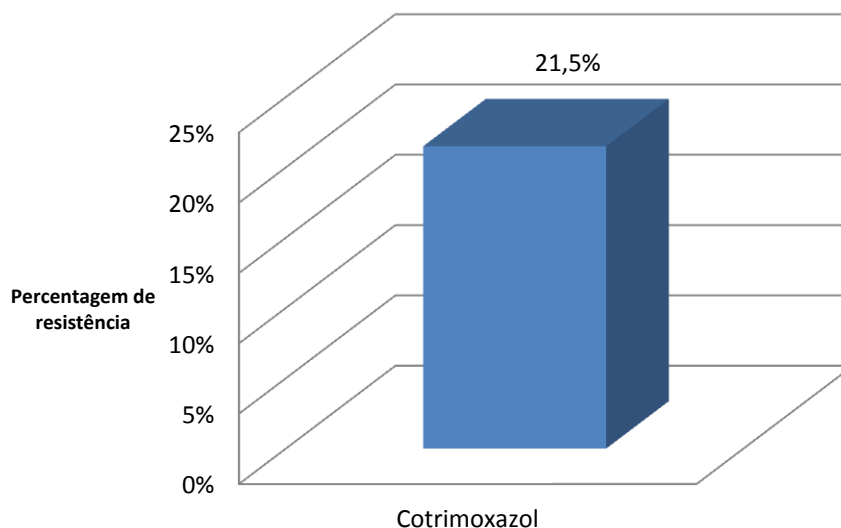


Figura 14: Perfil de resistências de *E. coli* ao grupo das sulfonamidas.

Do grupo das sulfonamidas, foi testado o cotrimoxazol, onde a *E. coli* revelou uma porcentagem de resistência significativa (21,5%) a este antibiótico (Figura 14). O cotrimoxazol é frequentemente utilizado no tratamento empírico das ITU, o que pode justificar a sua fraca ação contra estas estirpes (Costa *et al.*, 2009).

Tena *et al.* (2010), em Castilla la Mancha, realizaram um estudo descritivo de carácter retrospectivo, de janeiro de 2003 a dezembro de 2007, e constataram uma grande eficácia do cotrimoxazol (sensibilidade de 66%) em infeções causadas por *E. coli* sugerindo então a sua utilização em infeções provocadas por este agente microbiano com sensibilidade comprovada pelo antibiograma (Tena *et al.*, 2010).

4.6.7 Resistência de estirpes de *E. coli* à nitrofurantoína

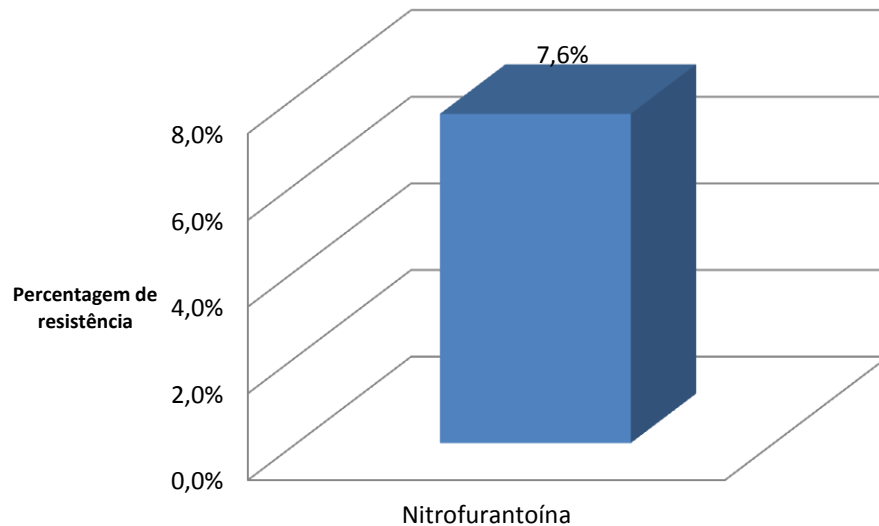


Figura 15: Perfil de resistências de *E. coli* à nitrofurantoína.

No que concerne à nitrofurantoína a *E. coli* apresentou uma resistência de 7,6% a este antibiótico (Figura 15). A nitrofurantoína é muito utilizada no tratamento empírico das ITU, como tem uma atividade múltipla, revela baixa resistência bacteriana a este antibiótico, apesar dos longos anos de utilização desta terapêutica (Sousa, 2006).

Segundo estudos recentes, devemos ter em conta que este antimicrobiano requer um tratamento prolongado, com 4 tomas ao dia, durante pelo menos 7 dias, e que juntamente com a sua toxicidade, torna necessário avaliar cuidadosamente o seu uso no tratamento de infeções comunitárias (Horcajada e Fariñas, 2005; Correia *et al.*, 2007; Tena *et al.*, 2010).

5. Conclusão

5. Conclusão

O presente estudo mostra algumas limitações metodológicas, uma vez que não foram correlacionadas informações clínicas sobre a presença ou ausência de infecções recorrentes.

Após a realização deste estudo, conclui-se que do total dos resultados positivos causadores de ITU, 90,3% pertencem a indivíduos do sexo feminino e 9,7% a indivíduos do sexo masculino. Apresentando-se um maior número de ITU na classe etária 61-75 anos.

As bactérias responsáveis pelas ITU isoladas com maior frequência foram a *E. coli* (85,5%), a *Klebsiella pneumoniae* (8,1%) e o *Proteus mirabilis* (3,8%). Estes resultados levam-nos a concluir que os antimicrobianos mais indicados para o tratamento das ITU, quando a abordagem deste for realizada empiricamente, devem ter um espectro de ação para enterobactérias, já que estas foram as bactérias associadas a grande parte das ITU.

Neste estudo confirmou-se que a *E. coli* é o microrganismo responsável pela maioria das ITU e que o conhecimento do seu perfil de resistência aos antimicrobianos poderá ser importante na escolha da terapêutica antimicrobiana empírica.

A maior percentagem de resistência dos isolados de *E. coli* verificou-se relativamente à ampicilina, à ticarcilina, à acetil cefuroxima, ao cotrimoxazol e ao grupo das quinolonas.

Com os dados obtidos podemos concluir que a fosfomicina é uma boa opção terapêutica para o tratamento empírico das ITU, por ser um antimicrobiano ao qual a *E. coli* (principal agente causador de ITU) revelou uma baixa prevalência de resistência. A escolha de um antimicrobiano do grupo das quinolonas, β -lactâmicos e sulfonamidas para uma terapêutica empírica duma ITU não se revelou a mais correta dada a alta percentagem de resistência da *E. coli* a este grupo de antimicrobianos.

A realização do exame bacteriológico na urina com o respetivo antibiograma não deverá ser excluído, pois garante a escolha do antimicrobiano mais adequado, limitando os custos e efeitos adversos destes fármacos e prolongando a sua eficácia, impedindo o desenvolvimento de estirpes resistentes.

6. Referências Bibliográficas

6.Referências Bibliográficas

Almeida, M. C., Simões, M. J. S., Raddi, M. S. G. (2007). Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. Vol. 28 (2), pp. 215 - 219.

Alós, J. I. (2005). Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria. Sensibilidad antimicrobiana de los principales patógenos y significado clínico de la resistencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 3:348.

Amadeu, A. R. O. M., & Sucupira, J. S. (2009). Infecções do Tracto Urinário: análise da frequência e do perfil de sensibilidade da *Escherichia coli* como agente causador dessas infecções. *RBAC*. Vol. 41 (4), pp. 275 - 277.

Andreu, A., Cacho, J., Coira, A., Lepe, J. A.,. (2011). Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Vol. 29 (1), pp. 52 - 57.

Barros, M. S. B., Menezes, M. M. M., Almeida, M. B., Brito, A. M. B., Pinheiro, M. S. (2011). Infecção do Trato Urinário na Infância: Perfil de Isolados em Uroculturas e Susceptibilidade aos Antimicrobianos em um Laboratório Clínico de Aracaju, SE. *NewLab*. Vol. 107, pp. 160 - 166.

Beerepoot, M. A. J., Den Heijer, C. D. J.,Penders, J., Prins, J. M., Stobberingh, E. E., Geerlings, S. E. (2012). Predictive value of *Escherichia coli* susceptibility in strains causing asymptomatic bacteriuria for women with recurrent symptomatic urinary tract infections receiving prophylaxis. *Clinical Microbiology and Infection*. pp. 1 - 7.

Behiry, I. K., Abada, E. A., Ahmed, E. A., Labeeb, R. S. (2011). Enteropathogenic *Escherichia coli* Associated with Diarrhea in Children in Cairo, Egypt. *The Scientific World Journal*. Vol. 11, pp. 2613 - 2619.

- Cadieux, P. A., Burton, J. P., Devillard, E., Reid, G. (2009).** *Lactobacillus* by-products inhibit the growth and virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Physiology and Pharmacology*. Vol. 60 (6), pp. 13 - 18.
- Cantón, R. (2010).** Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 28 (6), pp. 375 - 378.
- Car, J. (2006).** Urinary tract infections in women: diagnosis and management in primary care. *British Medical Journal*. Vol. 332, pp. 94 - 97.
- Caramona, M., Esteves, A.P., Gonçalves, J., Macedo, T., Mendonça, J., Osswald, W., Pinheiro, R.L., Rodrigues, R. L., Rodrigues, A., Sampaio, C., Sepodes, B., Teixeira, A. A. (2011).** *Prontuário Terapêutico* - 10. Infarmed.
- Chung, A. (2010).** Bacterial cystitis in women. *Australian Family Physician*. Vol. 39 (5), pp. 295 - 298.
- Correia, C., Costa, E., Peres, A., Alves, M., Pombo, G., Estevinho, L. (2007).** Etiologia das Infecções do tracto urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. *Acta Med Port*. Vol. 20, pp. 543 - 549.
- Costa, L. & Príncipe, P. (2005).** Infecção do tracto urinário. *Rev Port Clin Geral*. Vol. 21, pp. 219 - 225.
- Costa, M. C., Pereira, P. M., Bolotinha, C., Ferreira, A., Cardoso, R., Monteiro, C., Gomes, C. F., Gomes, J. F. (2009).** Frequência e Susceptibilidade Bacteriana em Infecções Urinárias - dados de um laboratório de Lisboa. Parte II. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*. Vol. 6, pp. 87 - 103.
- Cullerés, G. R., Sugrañes, J. C., Romeo, I. P., Pérez, M. G. (2010).** Characteristics of urinary tract infections in different patient subpopulations and depending on the bladder emptying system. *Actas Urológicas Españolas*. Vol. 34 (3), pp. 251 - 257.

- Dhakal, B. K., Kulesus, R. R., Mulvey, M. A. (2008).** Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *European Journal of Clinical Investigation*. Vol. 38, pp. 2 - 11.
- Duarte, A. (2009).** Factores de virulência bacteriana e antibióticos na infecção urinária. *Mundo Farmacêutico*. 7, Vol. 40.
- Ferreira, W. F. C. & Sousa, J. C. F. (1998).** "Microbiologia" volume 1, Lidel.
- Ferreira, W. F. C. & Sousa, J. C. F. (2000).** "Microbiologia" volume 2, Lidel.
- Figueiredo, S. C., Pio, D., Nordeste, A., Ramalheira, E., Pinhal, M., Rocha, P., Duarte, J. V. (2008).** Infecções urinárias em idade pediátrica no Hospital Infante D. Pedro, Aveiro: Agentes etiológicos e resistências aos antibióticos. *Saúde Infantil*. Vol. 30 (2), pp. 56 - 61.
- Giedraitiene, A., Vitkauskiene, A., Naginiene, R., Pavilonis, A. (2011).** Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina (Kaunas)*. Vol. 47 (3), pp. 137 - 146.
- Gobernado, M., Valdés, I., Alós, J. I., García-Rey, C., Dal-Ré, R., García-de-Lomas, J. (2007).** Antimicrobial susceptibility of clinical *Escherichia coli* isolates from uncomplicated cystitis in women over a 1-year period in Spain. *Rev Esp Quimioterap*. Vol. 20 (1), pp. 68 - 76.
- Gonzalez III, U. S., Pharm, D., Spencer, J. P. (1998).** Aminoglycosides: A Practical Review. *American Family Physician*. Vol. 58 (8), pp. 1811 - 1820.
- González-Chamorro, F., Palacios, R., Alcover, J., Campos, J., Borrego, F., Dámaso, D. (2012).** La infección urinaria y su prevención. *Actas Urológicas Españolas*. Vol. 36 (1), pp. 48 - 53.
- González-Pedraza, A., Ortiz, C., Mota, R., Dávilla, R., Dickinson, E. (2003).** Papel de las bacterias asociadas a infecciones de transmisión sexual en la etiología de la infección de

vías urinarias bajas en el primer nivel de atención médica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 21 (2), pp. 89 - 92.

Guneysel, O., Onur, O., Erdede, M., Denizbasi, A. (2009). Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in urinary tract infections. *The Journal of Emergency Medicine*. Vol. 36 (4), pp. 338-341.

Hernandez-Burruezo, J. J., Mohamed-Balghata, M. O., Martinez, L. A. (2007). Infecciones del aparato urinario. *Med Clin*. Vol. 129 (18), pp. 707 - 715.

Hernández, M. S., García, J. Á., Muñoz, J. L. (2009). Actividad in vitro de fosfomicina frente a enterobacterias de origen urinario productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Rev Esp Quimioter*. Vol. 22 (1), pp. 25 - 29.

Horcajada, J.P., Fariñas, M. C. (2005). Implicaciones de las resistencias bacterianas en las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Vol. 23 (1), pp. 1 - 3.

Lamikanra, A., Crowe, J. L., Lijet, R. S., Odetoyin, B. W., Wain, J., Aboderin, A. O., Okeke, I. N. (2011). Rapid evolution of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in Nigeria is temporally associated with fluoroquinolone use. *BioMed Central Infectious Disease*. Vol. 11:312, pp. 1 - 10.

Leroy, J., Patry, I., Faure, C., Ariskina, E., Gaume, J. P., Hénon, T., Ruyer, O., Faller, J. P., Hoen, B., Bertrand, X., Talon, D. (2011). Audit régional de l'usage des fluoroquinolones à l'hôpital et en ville: y a-t-il une surconsommation de ces antibiotiques? *Pathologie Biologie*. Vol. 59, pp. 103 - 107.

Lopes, L., Silva, A., Mota, S., Moreira, A., Sousa, M. (2010). Etiologia das Infecções do Tracto Urinário no Centro Hospitalar de Entre Douro e Vouga EPE. *Bioanálise*. Vol. 7 (1), p. 71.

- Maaland, M., Guardabassi, L. (2011).** In vitro antimicrobial activity of nitrofurantoin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. *Veterinary Microbiology*. Vol. 151, pp. 396-399.
- Maldaner, N. I., Cavalli, V., Rossi, E. M., Scapin, Diane., Sardigla, C. U. (2011).** Perfil Antimicrobiano de Cepas de *Escherichia coli* Isolados de Pessoas com Suspeita de Infecção do Trato Urinário. *RBAC*. Vol. 43 (2), pp. 145 - 147.
- Martins, F., Vitorino, J., Abreu, A. (2010).** Avaliação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de microrganismos isolados em urinas. Na região do Vale do Sousa e Tâmega. *Acta Med Port*. Vol. 23, pp. 641 - 646.
- Mehta, R., Champney, W. S. (2002).** 30S Ribossomal Subunit Assembly Is a Target for Inhibition by Aminoglycosides in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. pp. 1546 -1549.
- Meier, S., Weber, R., Zbinden, R., Ruef, C., Hasse, B. (2011).** Extended-spectrum B-lactamases-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Clinical and Epidemiological Study*. pp. 333 - 340.
- Mendo, A., Antunes, J., Costa, M. C., Pereira, P. M., Monteiro, C., Gomes, C. F., Gomes, J. F. (2008).** Frequência de Infecções Urinárias em Ambulatório - dados de um laboratório de Lisboa. Parte I. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*. Vol. 5 (2), pp. 216 - 223.
- Menezes, K. M. P., Goís, M. A. C., Oliveira, I. D., Pinheiro, M. S., Brito, A. M. G. (2009).** Avaliação da resistência da *Escherichia coli* frente a Ciprofloxacina em uroculturas de três laboratórios clínicos de Aracaju-SE. *RBAC*. Vol. 41 (3), pp. 239 - 242.
- Michalopoulos, A. S., Livaditis, I. G., Gougoutas, V. (2011).** The revival of fosfomycin. *International Journal of Infectious Diseases*. Vol. 15, pp. 732 - 739.

Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J. L., Ochoa, T. J. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. Vol. 28 (4), pp. 648 - 656.

Moyo, S. J., Aboud, S., Kasubi, M., Lyamuya, E. F., Maselle, S. Y. (2010). Antimicrobial resistance among producers and non-producers of extended spectrum beta-lactamases in urinary isolated at a tertiary Hospital in Tanzania. *Biomed Central Research Notes*. Vol. 3:348.

Mysorekar, I. U., & Hultgren, S. J. (2006). Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *PNAS*. Vol. 103 (38), pp. 14170 - 14175.

Narciso, A., Fonseca, F., Cerqueira, S. A., Duarte, A. (2011). Susceptibilidade aos antibióticos de bactérias responsáveis por cistites não complicadas: estudo comparativo dos isolados de 2008 e 2010. *Acta Urológica*. Vol. 1, pp. 16 - 21.

Navarro, F., Miró, E., Mireles, B. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Vol. 28 (9), pp. 638 - 645.

Nseir, S., Ader, F., Marquette, C. H., Durocher, A. (2005). Impact de l'utilisation des fluoroquinolones sur l'émergence des bactéries multirésistantes. *Pathologie Biologie*. Vol. 53, pp. 470 - 475.

Oliveira, A. C. C. & Silva, A. C. O. (2010). Prevalência de infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora em pacientes de UTI. *Rev Pesq Saúde*. Vol. 11 (1), pp. 27 - 31.

Oliveira, F. A. & Nogueira, K. S. (2011). Resistência a Fluoroquinolonas em *Escherichia coli* isoladas em cultura de urina. *RBAC*. Vol. 43 (2), pp. 152 - 154.

- Ortiz, R., Medina, H., Cortés, E., Cervantes, E., Rodriguez, L. (2011).** Trimethoprim-Sulfamethoxazole Increase Micronuclei Formation in Peripheral Blood From Weanling Well-Nourished and Malnourished Rats. *Environment and Molecular Mutagenesis*. pp. 673-680.
- Pereira, A. C. & Bordignon, J. C. (2011).** Infecção Urinária em Gestantes: Perfil de Sensibilidade dos Agentes Etiológicos de Gestantes Atendidas pelo SUS n cidade de Palmas - PR. *RBAC*. Vol. 43 (2), pp. 96 - 99 .
- Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S., Joukhadar, C. (2010).** Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infec Dis*. Vol. 29, pp. 127 - 142.
- Rabanaque, G., López, A., Cots, J. M., Llor, C. (2011).** Siguen los médicos de Atención Primaria las recomendaciones terapéuticas de las cistitis en la mujer? Estudio INURA. *Rev Esp Quimioter*. Vol. 24 (2), pp. 79 - 83.
- Rabiais, S., Aragão, F., Félix, J., Moreira, P., Rolo, F. (2010).** Infecção urinária recidivante: ocorrência, factores de risco e custo de diagnóstico e tratamento. *Acta Urológica*. Vol. 3, pp. 19 - 25.
- Raghunath, D. (2008).** Emerging antibiotic resistance in bacteria with special reference to India. *J. Biosci*. Vol. 33 (4), pp. 593 - 603.
- Rahn, D. D. (2008).** Urinary Tract Infections: Contemporary Management. *Urologic Nursing*. Vol. 28 (5), pp. 333 - 340.
- Rahnama'i, M. S., Wagenvoort, J. H. T., Linden, C. J. V. (2009).** Amoxicillin/clavulanate (Augmentin) resistant *Escherichia coli* in bacterial peritonitis after abdominal surgery - clinical outcomes in ICU patients. *The Netherlands Journal of Medicine*. Vol. 67 (5), pp. 173 - 176.

- Rajendran, P., Ajjampur, S. S. R., Chidambaram, D., Chandrabose, G., Thangaraj, B., Sarkar, R., Samuel, P., Raja, D. P., Kang, G. (2010).** Pathotypes of diarrheagenic *Escherichia coli* in children attending a tertiary care hospital in south India. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Vol. 68, pp. 117 - 122.
- Raz, R., & Naber, K. G. (2011).** Urinary Tract Infection in Postmenopausal Women. *Korean Journal of Urology*. Vol. 52, pp. 801 - 808.
- Revdiwala, S., Rajdev, B. M., Mulla, S. (2012).** Characterization of Bacterial Etiologic Agents of Biofilm Formation in Medical Devices in Critical Care Setup. *Critical Care Research and Practice*. pp. 1 - 6.
- Rodloff, A., Ewig, T. S., Kujath, P., Muller, E. (2008).** Susceptible, Intermediate; and Resistant - The Intensity of Antibiotic Action. *Deutsches Arzteblatt International*. Vol. 105 (39), pp. 657 - 662.
- Rolo, F., Parada, B., Moreira, P. (2008).** *Guia de Prática Clínica - Cistite não complicada na mulher*. Associação Portuguesa de Urologia.
- Rossi, P., Ribeiro, R. M., Lopes, H. V., Tavares, W., Stein, A. T., Simões, R. S. (2011).** Infecção urinária não complicada na mulher: diagnóstico. *Rev Assoc Med Bras*. Vol. 57 (3), pp. 258 - 261.
- Round, J., Fitzgerald, A. C., Hulme, C., Lakhanpaul, M., Tullus, K. (2012).** Urinary tract infections in children and the risk of ESRF. *Acta Paediatrica*. Vol. 101, pp. 278 - 282.
- Salvatore, S., Cattoni, E., Siesto, G., Serati, M., Sorice, P., Torella, M. (2011).** Urinary tract infections in women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. Vol. 156, pp. 131 - 136.
- Sande-Bruinsma, N., Grundman, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens, H., Ferech, M. (2008).** Antimicrobial Drug Use and Resistance in Europe. Vol. 14, pp. 1722 - 1730.

- Sangrador, C. O., Bouza, J. M. E., Mendez, C. P., Galiana, L. I. (2005).** Etiologia de las infecciones del tracto urinario y sensibilidad de los uropatógenos a los antimicrobianos. *Rev Esp Quimioterap.* Vol. 18, pp. 124 - 135.
- Santos, A. S., Catela, C., Serrão, M., Morais, M. J. (2008).** Etiologia das Infecções Urinárias em Crianças e Sensibilidade aos Antimicrobianos. *Revista Portuguesa de Ciências Biomédicas.* Vol. 3, pp. 14 - 17.
- Schultz, H. J., Edson, R. S. (2011).** Cystitis Treatment in Women, Circa 2011: New Role for an Old Drug. *Mayo Clinic.* Vol. 86 (6), pp. 477 - 479.
- Seeley, R. R., Stephens, T. D., Tate, P. (1997).** Anatomia & Fisiologia. Lusodidacta.
- Serna, M. C., Real, J., Marsal, J. R., Godoy, P., Galvan, L. (2011).** Determinantes de la prescripción de antibióticos en atención primaria. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* pp. 193 - 200.
- Silva, A., Machado, P., Rodrigues, V., Duarte, A. (2008).** Bactérias uropatogénicas identificadas de cistites não complicadas de mulheres na comunidade. *Acta Urológica.* Vol. 25 (3), pp. 9 - 14.
- Slekovec, C., Leroy, J., Vernaz-Hegi, N., Faller, J., Sekri, D., Hoen, B., Talon, D., Bertrand, X. (2012).** Impact of a region wide antimicrobial stewardship guideline on urinary tract infection prescription patterns. *Int J Clin Pharm.*
- Soriano-García, F. (2010).** Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la lectura interpretada del antibiograma. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* Vol. 28 (7), pp. 461 - 466.
- Sousa, J. C. (2006).** "Manual de Antibióticos Antibacterianos". Edições Universidade Fernando Pessoa.
- Tabibian, J. H., Gornbein, J., Heidari, A., Dien, S. L., Lau, V. H., Chahal, P., Churchill, B. M., Haake, D. A. (2008).** Uropathogens and Host Characteristics. *Journal of Clinical Microbiology.* Vol. 46 (12), pp. 3980 - 3986.

Tena, D., González-Praetorius, A., González, J. C., Heredero, E., Illescas, S., Baranda, C. S., Seseña, G. (2010). Evolución del patrón de sensibilidad de *Escherichia coli* en infecciones del tracto urinario diagnosticadas en la comunidad durante el periodo 2003-2007. Estudio multicéntrico en Castilla la Mancha. *Rev Esp Quimioter.* Vol. 23 (1), pp. 36 - 42.

Turner, S. M., Chaudhuri, R. R., Jiang, Z., DuPont, H., Gyles, C., Penn, C. W., Pallen, M. J., Henderson, I. R. (2006). Phylogenetic Comparisons Reveal Multiple Acquisitions of the Toxin Genes by Enterotoxigenic *Escherichia coli* Strains of Different Evolutionary Lineages. *Journal of Clinical Microbiology.* Vol. 44 (12), pp. 4528 - 4536.

Wagenelehner, F. M E., Hoyme, U., Kaase, M., Funfstuck, R., Naber, K. G., Schimmiemann, G. (2011). Uncomplicated Urinary Tract Infections. *Deutsches Arzteblatt International.* Vol. 108 (24), pp. 415 - 423.

Wiles, T. J., Kulesus, R. R., Mulvey, M. A. (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Experimental and Molecular Pathology.* Vol. 85, pp. 11 - 19.

Yamamoto, S. (2007). Molecular epidemiology of uropathogenic *Escherichia coli*. *Japanese Infect Chemother.* Vol. 13, pp. 68 - 73.

7. Anexos

Anexo 1

Procedimento coloração de Gram

1. Colocar sobre a lâmina uma gota de suspensão microbiana;
2. Secar e fixar pelo calor moderado;
3. Cobrir o esfregaço com Cristal de Violeta e deixar repousar durante 2 minuto;
4. Escorrer o corante e lavar com água corrente;
5. Cobrir com Lugol e deixar atuar 1 minuto, lavar com água corrente;
6. Descorar com álcool-acetona durante 30 segundos e lavar com água;
7. Cobrir o esfregaço com Safranina durante 30 segundos;
8. Escorrer o corante, lavar com água e deixar secar ao ar;
9. Observar ao microscópio ótico com objetiva de imersão (100x).

Anexo 2

Procedimento CPS ID3

1. Deixar as placas atingir a temperatura ambiente;
2. Semear a amostra, com a ansa calibrada de 10µl, da seguinte forma:
 - Imergir, na vertical, a ansa na urina,
 - Descarregar a ansa efetuando uma estria num raio da placa (verticalmente),
 - Em seguida, sem descarregar a ansa, fazer estrias perpendiculares muito apertadas em toda a superfície da placa.
3. Incubar na estufa, com a tampa para baixo, a 37°C em aerobiose.
4. As culturas são examinadas após 18 a 24 horas de incubação.

